

Aus dem  
Institut für Veterinär-Pathologie  
der Veterinärmedizinischen Fakultät  
der Universität Leipzig

---

**Histologischer und immunhistologischer Vergleich ovarieller stromaler  
Angiopathien mit extraovariellen/extrauterinen und uterinen degenerativen  
Gefäßveränderungen aus dem weiblichen Genitalapparat  
der Stute**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)  
durch die Veterinärmedizinische Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von  
Ines Hasenbein  
aus Bad Kreuznach

Leipzig, 2008

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. med. vet. Karsten Fehlhaber

Betreuer: Prof. Dr. med. vet. Heinz-Adolf Schoon

Gutachter: Prof. Dr. med. vet. Heinz-Adolf Schoon  
Institut für Veterinär-Pathologie der Universität Leipzig  
Universität Leipzig

Prof. Dr. med. vet. Martina Hoedemaker  
Klinik für Rinder  
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Prof. Dr. med. vet. Johannes Handler  
Klinik für Pferde  
Ludwig-Maximilians-Universität München

Tag der Verteidigung: 04.03.2008

*Meiner Familie,  
in Gedenken meiner Mutter*

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT.....</b>	<b>2</b>
2.1	Embryologische Organogenese des equinen Ovars.....	2
2.2	Postnatale Entwicklung und Morphologie des equinen Ovars .....	2
2.3	Histomorphologie des equinen Ovars.....	4
2.3.1	Ovariellles Stroma.....	4
2.3.2	Ovarielle Funktionskörper.....	4
2.4	Vaskularisation des equinen Ovars im Vergleich zu anderen Tierarten.....	6
2.4.1	Stromale Gefäßversorgung bei der Stute .....	6
2.4.2	Stromale Gefäßversorgung bei anderen Tierarten .....	6
2.4.3	Vaskularisation ovarieller Funktionskörper bei der Stute.....	7
2.5	Normalstruktur der verschiedenen Gefäßtypen .....	8
2.5.1	Arterien und Arteriolen .....	8
2.5.2	Kapillaren.....	8
2.5.3	Venen und Venolen.....	9
2.5.4	Lymphgefäße.....	10
2.6	Strukturelle Zusammensetzung der Gefäßwand .....	10
2.6.1	Zelluläre Bestandteile.....	11
2.6.2	Extrazelluläre Matrix.....	13
2.7	Erkrankungen der Gefäße (Angiopathien).....	14
2.7.1	Degenerative Gefäßveränderungen .....	14
2.7.2	Entzündliche Gefäßveränderungen .....	16
2.7.3	Häufigkeit und Vorkommen degenerativer Angiopathien im Bereich des ovariellen Stromas.....	17
2.7.4	Ovarielle und extraovarielle gefäßspezifische Krankheitskomplexe .....	17

<b>2.8 Ätiologische und pathogenetische Einflussfaktoren auf Angiopathien.....</b>	<b>18</b>
2.8.1 Hämodynamik .....	19
2.8.2 Endokrinologie .....	19
2.8.3 Gestation.....	20
2.8.4 Alter.....	20
2.8.5 Autokrine und parakrine Faktoren .....	21
<b>2.9 Morphologie des equinen Uterus .....</b>	<b>24</b>
2.9.1 Anatomischer und histologischer Aufbau .....	24
2.9.2 Vaskularisation des equinen Uterus und Verlauf der extrauterinen Gefäße .....	25
<b>2.10 Vorkommen und Bedeutung uteriner und extrauteriner degenerativer Angiopathien bei der Stute im Hinblick auf die Fertilität.....</b>	<b>26</b>
<b>2.11 Bedeutung der Endometriumbiopsie als diagnostisches Hilfsmittel in der Pferdegynäkologie .....</b>	<b>29</b>
<b>2.12 Dopplersonographische Blutflussuntersuchungen am Gefäßsystem im Bereich des weiblichen Genitalapparates.....</b>	<b>30</b>
2.12.1 Dopplersonographische Untersuchungen im Verlauf des Zyklus.....	30
2.12.2 Dopplersonographische Untersuchungen im Verlauf der Gravidität und des Puerperiums .....	33
<b>3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....</b>	<b>34</b>
<b>3.1 Tiergut.....</b>	<b>34</b>
3.1.1 Probenentnahme und Aufbereitung für die Lichtmikroskopie.....	35
3.1.1.1 Makroskopische Präparation und Beurteilung .....	35
3.1.1.2 Histologische Aufarbeitung.....	35
3.1.2 Lichtmikroskopische Untersuchung.....	37
3.1.2.1 Lichtmikroskopische Beurteilung der Gewebeproben.....	37
3.1.2.2 Histologische Spezialfärbungen .....	39
3.1.2.2.1 Pikrosiriusrot-Färbung .....	39
3.1.2.2.2 Von-Kossa-Färbung, Berliner-Blau-Färbung, Verlängerte Ziehl-Neelsen- Färbung, Turnbull-Blau-Färbung, PAS-Reaktion.....	41

3.1.3	Polarisationsmikroskopie .....	41
3.1.4	Immunhistologische Untersuchungen .....	41
3.1.4.1	Verwendete Antikörper, Positivkontrollen und Detektionssysteme .....	41
3.1.4.2	Immunhistologische Beurteilung .....	42
3.1.4.3	Semiquantitative Auswertung mit Hilfe eines Gefäßschädigungsindexes.....	43
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>44</b>
<b>4.1</b>	<b>Makroskopische Untersuchungsbefunde an den Ovarien und am Uterus .....</b>	<b>44</b>
4.1.1	Makroskopische Ovarbefunde.....	44
4.1.2	Makroskopische Uterusbefunde .....	45
4.1.3	Makroskopische Gefäßbefunde extrauteriner / extraovarieller Gefäße....	45
<b>4.2</b>	<b>Histologische Untersuchungsbefunde an den Ovarien und am Uterus.....</b>	<b>45</b>
4.2.1	Bestimmung des Zyklusstandes (Gruppe II).....	45
4.2.2	Histologische Ovarbefunde .....	46
4.2.2.1	Ovarielle Funktionskörper.....	46
4.2.2.2	Ovariellles Stroma .....	46
4.2.2.2.1	<i>Stromale Pigmentierung</i> .....	47
4.2.2.2.2	<i>Stromale Entzündungszellinfiltration</i> .....	48
4.2.2.3	Ovarielle Gefäße (H.-E.-Färbung) .....	49
4.2.2.3.1	<i>Fibrinoide Gefäßwandverquellungen</i> .....	49
4.2.2.3.2	<i>Asteroide Gefäßwandverkalkungen</i> .....	49
4.2.3	Histologische Uterusbefunde .....	50
<b>4.3</b>	<b>Histopathologische Untersuchungsergebnisse juveniler Stuten der Unter- suchungsgruppe I (Pikrosiriusrot-Färbung).....</b>	<b>52</b>
4.3.1	Histopathologische Befunde ovarieller Gefäße.....	52
4.3.2	Histopathologische Befunde extraovarieller/extrauteriner und uteriner Gefäße..	52
<b>4.4</b>	<b>Histopathologische Untersuchungsergebnisse adulter, zyklischer Stuten der Untersuchungsgruppe II (Pikrosiriusrot-Färbung) .....</b>	<b>52</b>
4.4.1	Histopathologische Befunde ovarieller Gefäße nulliparer Stuten.....	53
4.4.2	Histopathologische Befunde ovarieller Gefäße primiparer Stuten .....	53
4.4.3	Histopathologische Befunde ovarieller Gefäße multiparer Stuten.....	55

4.4.4	Vorkommen der Alterationstypen in Abhängigkeit von der Lokalisation.....	56
4.4.5	Histopathologische Befunde extraovarieller/extrauteriner Gefäße .....	57
4.4.6	Histopathologische Befunde uteriner Gefäße .....	59
<b>4.5</b>	<b>Histopathologische Untersuchungsergebnisse gravider Stuten der Unter-</b>	
	<b>suchungsgruppe III (Pikrosiriusrot-Färbung) .....</b>	<b>60</b>
4.5.1	Histopathologische Befunde ovarieller Gefäße.....	60
4.5.2	Histopathologische Befunde extraovarieller und extrauteriner sowie	
	uteriner Gefäße .....	61
<b>4.6</b>	<b>Histopathologische Untersuchungsergebnisse postpartaler Stuten der Unter-</b>	
	<b>suchungsgruppe IV (Pikrosiriusrot-Färbung).....</b>	<b>62</b>
4.6.1	Histopathologische Befunde ovarieller Gefäße.....	62
4.6.2	Histopathologische Befunde extraovarieller/extrauteriner sowie uteriner	
	Gefäße .....	63
<b>4.7</b>	<b>Vorkommen stromaler Angiopathien im Ovar in Beziehung zu den Funktions-</b>	
	<b>körpern der Follikel- und der Gelbkörperphase.....</b>	<b>70</b>
<b>4.8</b>	<b>Semiquantitative Auswertung mit Hilfe des Gefäßschädigungsindexes .....</b>	<b>70</b>
<b>4.9</b>	<b>Immunhistologische Untersuchungsergebnisse.....</b>	<b>71</b>
4.9.1	Ovariellles Stroma .....	71
4.9.2	Ovarielle Gefäße .....	73
	4.9.2.1 Immunhistologische Expression von Vimentin, Desmin und $\alpha$ -Aktin .....	73
	4.9.2.2 Immunhistologischer Nachweis von Kollagen-Typ III, Elastin und Laminin .	74
4.9.3	Extraovarielle und extrauterine Gefäße.....	78
	4.9.3.1 Immunhistologische Expression von Vimentin, Desmin, $\alpha$ -Aktin, Elastin,	
	Kollagen-Typ III sowie Laminin.....	78
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>79</b>
<b>5.1</b>	<b>Ziel der Arbeit .....</b>	<b>79</b>
<b>5.2</b>	<b>Kritische Beurteilung des Untersuchungsmaterials und der Untersuchungs-</b>	
	<b>methoden .....</b>	<b>79</b>

<b>5.3 Ovarielle Gefäßbefunde .....</b>	<b>80</b>
5.3.1 Histomorphologie stromaler Angiosen im Ovar nicht-gravider Stuten der Untersuchungsgruppen I und II.....	80
5.3.2 Histomorphologie stromaler Angiosen im Ovar gravider und postpartaler Stuten der Untersuchungsgruppen III und IV .....	86
<b>5.4 Extraovarielle und extrauterine Gefäßbefunde .....</b>	<b>90</b>
5.4.1 Histomorphologie extraovarieller und extrauteriner Angiopathien nicht-gravider (Gruppe I und II), gravider (Gruppe III) und postpartaler Stuten (Gruppe IV) .....	90
<b>5.5 Uterine Gefäßbefunde.....</b>	<b>91</b>
5.5.1 Histomorphologie uteriner Angiopathien nicht-gravider (Gruppe I und II), gravider (Gruppe III) und postpartaler Stuten (Gruppe IV).....	91
<b>5.6 Histologischer Vergleich ovarieller, extraovarieller/extrauteriner und uteriner degenerativer Angiopathien im weiblichen Genitalapparat der Stute.....</b>	<b>92</b>
<b>5.7 Vergleichende semiquantitative Auswertung mit Hilfe des Gefäßschädigungs- indexes .....</b>	<b>96</b>
<b>5.8 Mögliche funktionelle Auswirkungen von degenerativen Angiopathien aus dem Bereich des ovariellen Stromas auf die Fertilität der Stute .....</b>	<b>97</b>
 <b>6 ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	 <b>100</b>
 <b>7 SUMMARY .....</b>	 <b>102</b>
 <b>8 LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	 <b>104</b>



<b>9</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>A-1</b>
<b>9.1</b>	<b>Gruppierung und Charakterisierung des Untersuchungsmaterials .....</b>	<b>A-1</b>
<b>9.2</b>	<b>Histologische Normalbefunde ovarieller und extraovarieller Gefäße.....</b>	<b>A-4</b>
<b>9.3</b>	<b>Tabellarische Auflistung histologischer Ergebnisse.....</b>	<b>A-5</b>
<b>9.4</b>	<b>Histologische Spezialfärbungen .....</b>	<b>A-6</b>
9.4.1	Von-Kossa-Färbung .....	A-6
9.4.2	Berliner-Blau-Färbung .....	A-6
9.4.3	Verlängerte Ziehl-Neelsen-Färbung.....	A-7
9.4.4	PAS-Reaktion (Period-acid-Schiff-reaction) nach Schüller .....	A-7
9.4.5	Turnbull-Blau-Färbung .....	A-7
<b>9.5</b>	<b>Immunhistologie .....</b>	<b>A-8</b>
9.5.1	Benötigte Puffer, Lösungen und Seren .....	A-8
9.5.2	Verwendete Positivkontrollen, Kontrollseren, Sekundärantikörper und Detektionssysteme.....	A-9
9.5.3	Verfahrensschritte der immunhistologischen Untersuchungen .....	A-10
9.5.3.1	Vorbehandlung .....	A-10
9.5.3.2	Besondere Verfahrensweise .....	A-10
9.5.3.3	Antigennachweis mittels monoklonaler Antikörper (PAP-Methode).....	A-11
9.5.3.4	Antigennachweis mittels polyklonaler Antikörper (PAP-Methode).....	A-11
9.5.3.5	Nachbehandlung der immunhistologischen Schnitte .....	A-12
9.5.4	Verfahrensschritte der immunhistologischen Untersuchungen unter Verwendung des DAKO EnVision+ <sup>TM</sup> -Systems (Indirekte Peroxidase).....	A-12

$\alpha$	alpha
a	Jahr
A., Aa.	Arteria, Arteriae
Abb.	Abbildung
AG	Aktiengesellschaft
Aqua dest.	destilliertes Wasser
Art.	Arteriole
$\beta$	beta
BM	Basalmembran
BSA	Bovines Serum Albumin
bzw.	beziehungsweise
C.	Corpus
°C	Grad Celsius
CD	Cluster of Differentiation
Code-Nr.	Code-Nummer
d	Tag
DAB	3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid
destr.	destruierend
d.h.	das heißt
ECM	Extrazelluläre Matrix
EGF	Epidermal growth factor
Ela.	Elastolyse
ER	Östrogenrezeptor(en)
et al.	et alii
Fa.	Firma
FGF	Fibroblast growth factor
FK	Funktionskörper
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
g	Gramm
ggr.	geringgradig
GK	Gelbkörper
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
gr.	groß
GSI	Gefäßschädigungsindex
GZ	Granulosazellen
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
H.-E.	Hämatoxylin-Eosin
HCl	Salzsäure
hgr.	hochgradig
Hyp.	Hyperplasie
IE	Intimaelastose
IEF	Intimaelastofibrose
IF	Intimafibrose
IFE	Intimafibroelastose
IGF	Insulin-like growth factor
Il	Interleukin
inkl.	inklusive
Kap.	Kapitel
KG	Kommanditgesellschaft
kl.	klein
Koll.	Kollagenolyse

konz.	konzentriert
l	Liter
LH	Luteinisierendes Hormon
Lut.	Luteinzellen
µm	Mikrometer
M	Molar
ME	Mediaelastose
MEE	Membrana elastica externa
MEF	Mediaelastofibrose
MEI	Membrana elastica interna
MF	Mediafibrose
MFE	Mediafibroelastose
mgr.	mittelgradig
min.	Minute(n)
mittelgr.	mittelgroß
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
mM	Millimol
MMPs	Matrix Metalloproteinasen
Mon.	Monat
mosm	Milliosmol
n	Anzahl
nm	Nanometer
N	Normalität
n.u.	nicht untersucht
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Sauerstoff-Radikal
o.b.B.	ohne besonderen Befund
od.	oder
PanE	Panelastose
PanEF	Panelastofibrose
PanF	Panfibrose
PanFE	Panfibroelastose
PAP	Peroxidase anti-Peroxidase Methode
PAS	Period-acid-Schiff-reaction
PBS	Phosphate-buffered-saline
PDGF	Platelet-derived growth factor
PeE	Perielastose
PI	Pulsatility Index
pH	pH-Wert
pp	post partum
PR	Progesteronrezeptor(en)
RI	Resistance-Index
S.	Seite
SMC	Smooth muscle cell
sog.	sogenannt
SSL	Scheitel-Steiß-Länge
Tab.	Tabelle
TBS	Tris-buffered-saline
T.e.	Theca follicularis externa
TGF	Transforming growth factor

## Abkürzungsverzeichnis

---

T.i.	Theca follicularis interna
TIMPs	Tissue inhibitors der MMPs
TM	Trächtigkeitsmonat
TNF	Tumornekrosefaktor
u.	und
u.a.	unter anderem
v.	von
V., Vv.	Vena, Venae
v.a.	vor allem
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VSMC	Vascular smooth muscle cell
WHO	World Health Organisation (Weltgesundheitsorganisation)
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

## 1 Einleitung

In der Literatur liegen zahlreiche licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zu uterinen und extrauterinen, genitalen Gefäßveränderungen beim Menschen sowie bei den verschiedensten Tierarten inkl. der Stute vor (KRIESTEN 1995, LUDWIG et al. 2001). Als Ursache für die Umstrukturierung der uterinen Gefäßwände werden bei Stuten hauptsächlich hämodynamische und hormonell bedingte Umbauvorgänge während der Trächtigkeit und des Puerperiums (GRÜNINGER et al. 1998), kurze Trächtigkeitspausen sowie chronische Entzündungsvorgänge verantwortlich gemacht (SCHOON et al. 1997b). Neben der detaillierten histomorphologischen Beschreibung uteriner Angiosen, sind bei der Stute auch extrauterine Gefäßalterationen lichtmikroskopisch charakterisiert worden (LUDWIG 2003). In dem Zusammenhang wurde eine deutliche Korrelation bezüglich der qualitativen und quantitativen Veränderungen zwischen den uterinen (endometrialen und myometrialen) und extrauterinen Angiosen festgestellt. Dies führte zur Schlussfolgerung, dass anhand einer Endometriumbiopsie, mit deren Hilfe der histologische Gefäßstatus erhoben wird, wahrscheinlich ein Rückschluss auf den Zustand extrauteriner Gefäße möglich ist (LUDWIG 2003).

Im Gegensatz zu diesen ausführlich untersuchten intra- und extrauterinen Gefäßveränderungen sind degenerative Angiopathien im Bereich des Ovars sowie der extraovariellen Gefäße bislang kaum Gegenstand human- oder veterinärmedizinischer Studien gewesen (POULHÈS u. GAUBERT 1954, TEN BERGE 1968). Entzündliche Veränderungen der im ovariellen Stroma und extraovariell gelegenen Gefäße sind, ebenso wie die degenerativen Angiopathien, nur vereinzelt in Form klinischer Fallberichte, vorwiegend in der humanmedizinischen Fachliteratur beschrieben (RODRIGUEZ-GARCIA et al. 1992, HADAS-HALPERN et al. 2002).

Im Rahmen der vorliegenden Studie soll nun überprüft werden, ob die von LUDWIG (2003) im Bereich des Uterus statistisch gesicherte Feststellung uteriner-extrauteriner Korrelationen auch auf ovarielle und extraovarielle Gefäße ausgedehnt werden kann. Das Ziel dieser Studie ist neben der histomorphologischen Beschreibung und Charakterisierung der ovariellen und extraovariellen Angiopathien bei der Stute ein qualitativer und quantitativer histologischer Vergleich mit den extrauterinen und uterinen Gefäßalterationen, um mögliche Korrelationen zwischen den verschiedenen Lokalisationen nachweisen zu können. Weiterhin sollen anhand spezieller immunhistologischer Marker mögliche ätiopathogenetische Aspekte und morphologisch-funktionelle Zusammenhänge aufgezeigt werden.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Embryologische Organogenese des equinen Ovars

Im Verlauf der mesodermalen Organogenese der weiblichen Geschlechtsanlage kommt es bei den Haussäugetieren im Bereich des Ovars infolge der Bildung von Keimsträngen sowie der einsetzenden meiotischen Teilung der Keimzellen zu einer Trennung in eine ovarielle Rinden- und Markzone (SCHNORR u. KRESSIN 2001). Im kortikalen Bereich wandeln sich die peripheren Keimstränge in Primordialfollikel um, die sich zu Primärfollikeln differenzieren. Mit der Ausbildung der Ovarfollikel setzt die mesenchymale, d.h. medulläre Differenzierung des Eierstockes sowie die Gefäßeinsprossung aus dem Mesovarium ein. Diese Form der embryonalen Gefäßentstehung wird als „*Vaskulogenese*“ bezeichnet, und bedeutet, dass die Bildung primitiver Gefäßstrukturen von mesodermalen Vorläuferzellen (Angioblasten) ausgeht (DRAKE et al. 1998, PLENDL 2000). Neben diesen primitiven Gefäßen sind in der Medulla ovarii, unabhängig vom Embryonalstadium (GONZALEZ-ANGULO et al. 1971), außerdem noch zahlreiche, granuliert Interstitialzellen bzw. Zwischenzellen (MICHEL 1986, RÜSSE 1991) nachweisbar, die besonders ausgeprägt bei multiparen Tieren (Katze und Nagern), aber auch beim Pferd (GONZALEZ-ANGULO et al. 1971, KNOSPE u. BUDRAS 1992) vorzufinden sind. Bei diesen interstitiellen Zellen handelt es sich um 20-30 µm große, metabolisch aktive, steroid-produzierende Zellen („*interstitielle Endokrinozyten*“), die für die massive Größenzunahme, insbesondere des equinen Ovars, im Verlauf der Embryonalentwicklung verantwortlich sind (HAY u. ALLEN 1975, RÜSSE 1991). Die Interstitial- bzw. Zwischenzellen unterliegen zunehmend Degenerationserscheinungen, was zu einer Reduktion der Zellzahl und der Größe des Organs gegen Ende des Embryonalstadiums führt. Im Zusammenhang mit der fettigen Degeneration dieser Zellen ist auch eine Ceroid-Pigmentierung, insbesondere beim Pferd (GRECCHI et al. 1966, KNOSPE u. BUDRAS 1992), zu erkennen.

### 2.2 Postnatale Entwicklung und Morphologie des equinen Ovars

Die Ovarien adulter, geschlechtsreifer Stuten sind typischerweise durch ein bohnen- bzw. nierenförmiges Aussehen gekennzeichnet. Mit einer Länge von 50-80 mm und einer Breite von 20-40 mm besitzt die adulte Stute die größten Ovarien unter den Haussäugetieren (SCHUMMER u. VOLLMERHAUS 1987). Die Größe, die Form und letztendlich auch das Gewicht dieses Organs unterliegt jedoch maßgeblich zyklisch bedingten Variationen (HAMMOND u. WODZICKI 1941, SCHUMMER u. VOLLMERHAUS 1987).

Hinsichtlich des morphologischen Aufbaus unterscheidet sich das equine Ovar erheblich von dem anderer Haussäugetiere (HOHENHAUS u. LEHMANN 1990) sowie dem des Menschen (KÖNIG u. RIES 1987). Das Ovar einer juvenilen, präpubertären Stute zeichnet sich bis zum Erreichen der Geschlechtsreife durch eine zonale Differenzierung aus, wobei eine Germinalzellen enthaltende Rindenschicht (*Zona parenchymatosa*) von einer lockeren, gefäß- und nervenführenden Markzone (*Zona vasculosa*) zu unterscheiden ist (Abb. 2.1). Typischerweise formiert sich dabei das medulläre Ovargewebe fast vollständig um die zentral gelegene Rindenregion (STABENFELDT et al. 1975). Diese, von den übrigen Haussäugetieren abweichende Anordnung von Rinde und Mark, ist auf eine präpubertär stattfindende inverse Verlagerung der *Zona parenchymatosa* in die Tiefe des Organs zurückzuführen (MC ENTÉE 1990). Das juvenile, bis zu diesem Zeitpunkt ovale Organ ist weiterhin von einer dünnen, faserreichen Bindegewebsschicht (Tunica albuginea) sowie darauffolgend fast vollständig von Keimepithel umgeben (GINTHER 1992).

Mit Beginn der Pubertät bzw. zum Teil schon deutlich früher ab einem Alter von 7 Monaten (WALT et al. 1979), bildet sich an dem ventralen, konkaven Rand eine trichterartige Vertiefung (Ovulationsgrube) aus, die dem Ovar adulter, postpubertärer Stuten die charakteristische Bohnen- bzw. Nierenform verleiht. Da sich beim adulten Pferd nur in diesem Bereich Keimepithel befindet, sind auch nur dort Ovulationen möglich (WITHERSPOON u. TALBOT 1970, WARSZAWSKY et al. 1972, KÖNIG 1995). Eine deutliche morphologische Trennung in einen kortikalen und medullären Bereich ist innerhalb des Ovars adulter, postpubertärer Stuten nicht mehr zu erkennen (HAMMOND u. WODZICKI 1941, ROONEY u. ROBERTSON 1996).

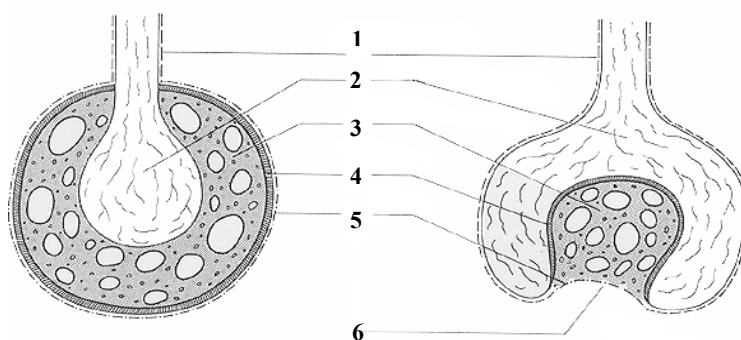


Abb. 2.1: Vergleichende schematische Darstellung eines Rinderovars (links) und eines Pferdeovars (rechts): 1 = Serosa, 2 = gefäßreich- und nervenreiche Zona vasculosa, 3 = Zona parenchymatosa mit Germinalzellen, 4 = Tunica albuginea; 5 = Keimepithel, 6 = Ovulationsgrube (HOHENHAUS u. LEHMANN 1990)

## 2.3 Histomorphologie des equinen Ovars

### 2.3.1 Ovarielles Stroma

Die zentral gelegene *Zona parenchymatosa* der Stute ist durch das Auftreten zahlreicher, unterschiedlich weit entwickelter und in Regression befindlicher Follikel sowie, nach Erreichen der Geschlechtsreife, auch durch Gelbkörper verschiedener Entwicklungs- und Rückbildungsstadien gekennzeichnet (SMOLLICH 1992b). Als speziesspezifisches Charakteristikum weist die *Zona parenchymatosa* adulter, geschlechtsreifer Stuten, im Gegensatz zu den anderen Haussäugetieren, einen variablen Follikelpool (6400 bis 75200 Follikel) auf (DRIANCOURT et al. 1982). Als strukturelle Grundlage fungieren in dieser Schicht stoffwechselaktive Stromazellen, die in einem lockeren Raumgitter angeordnet sind (spinozelluläres Bindegewebe). Diese Stromazellen ähneln Fibrozyten, weisen ein hohes Regenerationspotential und die Fähigkeit zur Phagozytose auf (LIEBICH 2003b). Außerdem wird den Zellen noch das Vermögen zur Transformation in Myofibroblasten und epithelzellartige Steroidproduzenten zugesprochen (SMOLLICH 1992b).

Die beim Pferd glockenförmig außen anliegende *Zona vasculosa* stellt die gefäß- und nervenführende Schicht des Ovars dar (LIEBICH 2003b). Die arteriellen Gefäße treten am Hilus ovarii (Margo mesovaricus) in den Eierstock ein, verzweigen sich zunehmend, während sie in die Tiefe zu den Funktionskörpern ziehen (KÖNIG u. RIES 1987). Das venöse und lymphatische Gefäßsystem tritt, im Gegensatz dazu, im Hilusbereich aus dem equinen Ovar aus. Neben den Gefäßstrukturen sind noch vasomotorisch wirksame Nervenfasern vorhanden, die die Myofibroblasten im Bereich der Thekazellschicht der Ovarfollikel (SMOLLICH 1992b) sowie die Mediamyozyten der Gefäße (LIEBICH 2003b) vegetativ versorgen.

### 2.3.2 Ovarielle Funktionskörper

Ovarielle Funktionskörper treten, auch beim Pferd, in der *Zona parenchymatosa* in verschiedenen Entwicklungsstadien (Anbildung, Reife und Rückbildung) auf (LIEBICH 2003b). Eine Zusammenstellung der histomorphologischen Charakteristika der verschiedenen Funktionskörper der Follikel- sowie der Gelbkörperphase ist, in Abhängigkeit vom Entwicklungsstand, den nachfolgenden Tabellen (Tab. 2.1 und Tab. 2.2 auf S. 5) zu entnehmen.

#### Legende zur Tabelle 2.1:

- |                             |                              |                         |
|-----------------------------|------------------------------|-------------------------|
| 1) LIEBICH (2003b)          | 2) SMOLLICH (1992b)          | 3) KENNEY et. al (1979) |
| 4) DRIANCOURT et. al (1982) | 5) VAN NIEKERK et. al (1973) |                         |

#### Legende zur Tabelle 2.2:

- |                              |                     |                               |
|------------------------------|---------------------|-------------------------------|
| 1) LIEBICH (2003b)           | 2) SMOLLICH (1992b) | 3) HAMMOND u. WODZICKI (1941) |
| 4) VAN NIEKERK et al. (1975) | 5) ARTHUR (1958)    | 6) SQUIRES et al. (1974)      |
| 7) AUGUSTIN (2000)           |                     |                               |



Tab. 2.1: Histomorphologische Merkmale der ovariellen Follikel in Abhängigkeit vom Entwicklungsstand

Entwicklungsstand	Funktionskörper	Histomorphologische Charakteristika
<b>An-bildungs-stadium</b>	Primordialfollikel	- <b>Follikelepithel:</b> abgeplattet, einschichtig und undifferenziert <sup>1,2)</sup>
	Primärfollikel	- <b>Follikelepithel:</b> iso- /teils hochprismatisch und einschichtig <sup>1,2)</sup>
	Sekundärfollikel	- <b>Follikelepithel:</b> hochprismatisch u. mehrschichtig <sup>1,2)</sup> ; Differenzierung in Corona-radiata-Zellen, Intermediär- u. Basalzellen <sup>1)</sup> - <b>Thekazellschicht:</b> Ausbildung einer Theca follicularis <sup>1)</sup> , differenziert in eine Theca interna und externa <sup>2)</sup>
<b>Reife-stadium</b>	Tertiär- / Graafscher Follikel	- <b>Oozyte:</b> umgeben von einer einschichtigen Lage hochprismatischer Follikelzellen (Corona radiata) sowie einer Zona pellucida, die über den Eihügel mit der Follikelwand in Verbindung steht <sup>1,2)</sup> - <b>Follikelepithel:</b> isoprismatisch und mehrschichtig mit Ausbildung eines Antrum folliculare <sup>1,2)</sup> ; Differenzierung des mehrschichtigen Follikelepithels in Basalzellen, Intermediärzellen und Granulosazellen <sup>1)</sup> - <b>Thekazellschicht:</b> Differenzierung der Thekazellschicht <sup>4)</sup> in eine Theca follicularis interna (steroidproduzierende, lipoidhaltige Zellen) und einer Theca follicularis externa (spindelförmige Stromazellen) <sup>1,2)</sup>
<b>Rück-bildungs-stadium</b>	Follikel-atresie	- <b>Granulosazellen:</b> Nachweis von Zellkerndegenerationen (Kernpyknose, Karyorrhesis und Karyolyse) <sup>3)</sup> sowie intrazytoplasmatischer Degenerationsprozesse (Lipidtropfen) <sup>2)</sup> ; <u>im fortgeschrittenen Stadium:</u> Desquamation von „atretic bodies“ ins Antrum folliculare <sup>3)</sup> ; Verlust des Zellkontaktes mit der Basalmembran <sup>5)</sup> ; Nachweis einer verbreiterten, hyalinen Basalmembran <sup>3)</sup> ; Abnahme der Mitoserate <sup>5)</sup> - <b>Thekazellen:</b> Quantitative Abnahme der Thekazellen <sup>3)</sup> ; Abnahme der Vaskularisation (Theca interna) <sup>3)</sup>
	Corpus fibrosum	- Nachweis einer massiv verbreiterten, hyalinen, in Falten liegenden Basalmembran; eingebettet in Narbengewebe <sup>5)</sup>

Tab. 2.2: Histomorphologische Merkmale der verschiedenen Gelbkörperstrukturen in Abhängigkeit vom Entwicklungsstand

Entwicklungsstand	Funktionskörper	Histomorphologische Charakteristika
<b>Anbildungs-stadium</b>	Corpus haemorrhagicum / rubrum	- Nachweis von Blutserum, Blutkoagula und Resten des Liquor follicularis zentral in der kollabierten Follikelhöhle <sup>1,2,5)</sup> - Transformation der Granulosazellen zu großen, lichtmikroskopisch hellen <sup>4)</sup> Luteinzellen (Ø 40 µm) sowie der Thekazellen zu kleinen, lichtmikroskopisch dunkleren <sup>4)</sup> Luteinzellen (Ø 15 µm) <sup>1,2)</sup>
	Corpus luteum (in der Anbildung)	- zunehmende Hypertrophie und Hyperplasie der Luteinzellen <sup>1,2,4)</sup> mit Ausbildung eines zellorganellenreichen Syntheseapparates zur Steroidproduktion (Progesteron) <sup>2,4)</sup> , beginnende Einlagerung von Lipopigmenten <sup>1)</sup>
<b>Reife-stadium</b>	Corpus luteum cyclicum	- Nachweis eines soliden <sup>2)</sup> , jedoch teils unvollständig luteinisierten Funktionskörpers <sup>5)</sup> mit deutlich ausgeprägtem Kapillarnetz <sup>1)</sup>
	Corpus luteum graviditatis	- Nachweis eines primären Corpus luteum bis zum 38. <sup>4)</sup> - 40. Trächtigkeitstag <sup>1)</sup> , danach Ausbildung sekundärer (akzessorischer) Corpora lutea, die sich um den 160. Trächtigkeitstag wieder zurückbilden <sup>6)</sup>
<b>Rück-bildungs-stadium</b>	Corpus luteum in Regression	- Degeneration der Luteinzellen („fettige Degeneration“), verbunden mit Kernpyknose und Karyolyse <sup>3)</sup> sowie Phagozytose durch Makrophagen <sup>1,2)</sup> ; deutliche Zunahme des interstitiellen Bindegewebes <sup>1,2,4)</sup> - Nachweis sklerotischer Gefäßveränderungen mit Obliteration der Gefäßlumina <sup>4)</sup> , zunehmende Kapillarregression <sup>7)</sup>
	Corpus albicans	- vollständiger Abbau des Gelbkörpers bis zur Narbenbildung <sup>1,7)</sup>

## 2.4 Vaskularisation des equinen Ovars im Vergleich zu anderen Tierarten

### 2.4.1 Stromale Gefäßversorgung bei der Stute

Die *A. ovarica* entspringt bei der Stute in Höhe des 4. Lendenwirbels aus der Aorta abdominalis (WILKENS u. MÜNSTER 1984a). In Ovarnähe teilt sich diese in 2 Hauptäste (*Ramus cranialis* und *Ramus caudalis*), die im Mesovarium ein umfangreiches Arterienkonvolut bilden (KÖNIG u. RIES 1987). Nachdem die beiden Hauptäste das Ovar erreicht haben, verlaufen diese erst oberflächlich in der Tunica albuginea (KÖNIG 1995), bis sie in Höhe der Fossa ovarii in das Stroma eintreten. Dort verzweigen sich beide in Rami 1. und 2. Ordnung, wobei die letzteren korkenzieherartig in die Tiefe zu den Funktionskörpern ziehen (KÖNIG 1995). Auf einen Funktionskörper laufen bei der Stute typischerweise mehrere Arterien von allen Seiten zu (HEES et al. 1988).

Die *V. ovarica* der Stute teilt sich kurz vor Erreichen des Ovars in mehrere (4-6) Äste auf. In ihrem weiteren Verlauf ziehen diese über die Medialfläche zur Fossa ovarii (KÖNIG u. RIES 1987). Innerhalb des Organs zeigen die Venen keine Gefäßwindungen und verlaufen oberflächlich (HEES et al. 1988, KÖNIG 1995). Die intraovariellen, stromalen Venen der Stute sind durch das Auftreten von Venenklappen sowie sphinkterartigen Strukturen gekennzeichnet (KÖNIG u. RIES 1987, KÖNIG 1995).

### 2.4.2 Stromale Gefäßversorgung bei anderen Tierarten

Die stromale Gefäßversorgung anderer Haussäugetiere unterscheidet sich maßgeblich von derjenigen der Stute (Tab. 2.3).

Tab. 2.3: Speziesspezifische Merkmale der ovariellen, stromalen Vaskularisation

Tierart	Speziesspezifische stromale Vaskularisation	Autor
<b>Rind</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Versorgung der ovariellen Follikel / GK durch eine Hauptarterie<sup>2,3)</sup></li> <li>- Gelbkörper: Verzweigung der Hauptarterie in stromal gelegene Kapselarterien (Gefäßkorb), die keine Gefäßsprossung Richtung Ovarstroma aufweisen =&gt; manuelle Eukleation des GKs möglich<sup>1,2)</sup></li> <li>- keine sphinkterartige Strukturen an den stromalen Venen<sup>1)</sup></li> </ul>	<b>1) KÖNIG u. RIES</b> (1987) <b>2) KÖNIG et al.</b> (1988) <b>3) YAMADA et al.</b> (1995b)
<b>Kamel</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>A. ovarica</i> entspringt in Höhe des 6. Lendenwirbels aus der Aorta</li> <li>- <i>A. ovarica</i> zeigt anatomisch eine enge Lagebeziehung zur <i>V. ovarica</i></li> </ul>	KADHIM et al. (1998)
<b>Schwein</b>	- Versorgung des porzinen Ovars durch mehrere gewundene Spiralarterien, die über den Hilus eintreten und sich zu geradlinigen Arteriolen verzweigen	JIANG et al. (2002)
<b>Kaninchen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 2-3 Hauptzweige der utero-ovariellen Arterie treten über den Hilus ein<sup>4)</sup></li> <li>- zunehmende Verzweigung der stark gewundenen Hauptarterien im Bereich der Medulla ovarii („helikale Arterien“) sowie im kortikalen Bereich<sup>4)</sup></li> <li>- Nachweis anastomosierender Arteriolen im Kortex<sup>4)</sup>, die sich weiter zu Kapillaren verzweigen (kortikales Kapillarnetz)<sup>5)</sup></li> </ul>	<b>4) DOS SANTOS-FERREIRA et al.</b> (1974) <b>5) MACCHIARELLI et al.</b> (1995)
<b>Meerschwein</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- jeweils 3-4 Zweige der <i>A. ovarica</i> treten über den Hilus in das Stroma ein</li> <li>- Ausbildung anastomosierender, arterieller Arkaden im Kortextbereich</li> </ul>	HOSSAIN u. O'SHEA (1983)

### 2.4.3 Vaskularisation ovarieller Funktionskörper bei der Stute

Eine große Anzahl in erster Linie rasterelektronenmikroskopischer Studien sind, unter Zuhilfenahme von Korrosionspräparaten, am ovariellen Gefäßsystem im Bereich der Funktionskörper beim Pferd sowie bei anderen Säugetierarten [Rind (ROSATI u. PELAGALLI 1968, KÖNIG et al. 1988, YAMADA et al. 1995a, YAMADA et al. 1995b), Schwein (JIANG et al. 2002), Ratte (MURAKAMI et al. 1988), Goldhamster (SPANEL-BOROWSKI et al. 1987, FORSMAN u. MCCORMACK 1992), Kaninchen (DOS SANTOS-FERREIRA et al. 1974, KANZAKI et al. 1982, MACCHIARELLI et al. 1991, 1993, 1995, NOTTOLA et al. 1997)] und beim Geflügel (NISHIDA et al. 1977) vorgenommen worden, um die Entwicklung der speziesspezifischen Mikrovaskularisation zu analysieren.

Bei der Stute sind im Rahmen dieser Studien (KÖNIG u. RIES 1987, HEES et al. 1988, KÖNIG et al. 1988, KÖNIG 1995) folgende Aufzweigungen des stromalen Gefäßsystems im Bereich der *Zona parenchymatosa* beschrieben: Die bereits im Kap. 2.4.1. erwähnten, korkenzieherartig im Stroma verlaufenden Rami 2. Ordnung gehen im Bereich der Theca follicularis externa reifer Tertiärfollikel in geradlinige Arteriolen über. Diese wiederrum speisen in der internen Thekazellschicht ein dichtes Kapillarnetz, das an die Basalmembran im Übergangsbereich zum Stratum granulosum grenzt. Aus diesem Kapillargeflecht geht der venöse Schenkel in Form von geradlinigen Venolen hervor, die ebenfalls die Theca externa versorgen (HEES et al. 1988).

Sprungreife Graafsche Follikel weisen *prae-ovulationem* im Bereich der Thekazellschicht ein rundes, im Durchmesser 5 mm großes, blutgefäßfreies Areal (Stigma) auf, das als Prädilektionsstelle für die Ovulation (Rissstelle) fungiert (KÖNIG 1995). Nach dem Eisprung faltet sich die Follikelwand und es beginnt eine rege, nach innen gerichtete Gefäßsprossung (KÖNIG 1995), wobei der neuentstandene luteale Funktionskörper einer deutlichen Lappung unterliegt. Im weiteren Verlauf bilden sich sehr dicht gepackte, kaum Anastomosen eingehende Kapillaren aus, die zum Inneren des neu entstandenen Gelbkörpers streben (HEES et al. 1988). Zentral münden diese in ein Venolennetz (KÖNIG 1995).

Die Vaskularisation jüngerer Follikelstadien (Primordial-, Primär- und Sekundärfollikel) ist in dem Zusammenhang für die Stute nicht beschrieben. Rasterelektronenmikroskopische Studien anderer Spezies (Rind, Kaninchen, Ratte) belegen, dass diese frühen Ovarfollikelstadien ab einer bestimmten Größe ausschließlich von Kapillaren versorgt werden (MURAKAMI et al. 1988, MACCHIARELLI et al. 1991, YAMADA et al. 1995a).

## 2.5 Normalstruktur der verschiedenen Gefäßtypen

Die Wandung der Gefäße besteht grundsätzlich aus drei unterschiedlich aufgebauten Schichten, der *Tunica intima* (Intima), der *Tunica media* (Media) sowie der *Tunica adventitia seu externa* (Adventitia) (BUSS 1984, RIEDE et al. 1989). Die arteriellen, venösen und kapillären Gefäße lassen alle einen ähnlichen Bauplan erkennen, im Einzelnen aber ist ihre Wand, je nach Beanspruchung und Körperregion, verschieden gestaltet (BUCHER u. WARTENBERG 1989, SMOLLICH 1992a).

### 2.5.1 Arterien und Arteriolen

Die Intima arterieller Gefäße läßt sich in eine einschichtige Lamina endothelialis (Endothel, Angiothel), ein bindegewebiges Stratum subendotheliale und eine gefaltete Membrana elastica interna (MEI) unterteilen. Das Gefäßendothel ist stets von einer geschlossenen Basalmembran unterlagert. Das Stratum subendotheliale kann neben elastischen und kollagenen Fasern noch einzelne Fibrozyten, Mediamyozyten sowie Histiozyten einschließen (LIEBICH 2003a). Die Media besteht aus mehreren (3-30) Schichten glatter Muskelzellen (Mediamyozyten) mit dazwischengelagerten elastischen und kollagenen Bindegewebsfasern (BUCHER u. WARTENBERG 1989). Die Adventitia bildet einen fibroelastischen Netzverband (VOSS et al. 1994). Sie schließt vorzugsweise längsorientierte elastische Fasern ein, die zusammen die strukturelle Grundlage der Membrana elastica externa bilden. In dieser Schicht verlaufen außerdem noch vegetative Nervenfasern und kleinere Gefäße (Vasa vasorum) zur Versorgung der Gefäßwand (LIEBICH 2003a).

Die Arteriolen sind die kleinsten noch mit glatter Muskulatur ausgestatteten Gefäße des arteriellen Hochdrucksystems (s. Abb. 2.2 auf S. 9) (BUCHER u. WARTENBERG 1989). Das flache, geschlossene Endothel liegt einem dünnen Stratum subendotheliale an. Eine MEI fehlt gewöhnlich (LIEBICH 2003a). Die Media setzt sich nur noch aus 1-2 Schichten glatter Muskelzellen zusammen, die jedoch bei einem Gefäßdurchmesser von  $< 50 \mu\text{m}$  funktionell noch ausgesprochen wirksam sind (BUSS 1984). Den Arteriolen nachgeschaltet sind sog. Metarteriolen, die als „präkapilläre Sphinkteren“ bezeichnet werden (LIEBICH 2003a). Diese nehmen über Lumenänderungen Einfluss auf den Strömungswiderstand des Blutes und sind somit kreislaufregulatorisch von Bedeutung (SMOLLICH 1992a).

### 2.5.2 Kapillaren

Die Blutkapillaren bilden ein weitverzweigtes, stoffwechselaktives Netz zwischen den kleinsten Arteriolen und den postkapillären Venolen (LIEBICH 2003a). Die Kapillaren

(Ø 7-9 µm) bestehen aus einem einschichtigen Endothel, das zu einem Rohr geschlossen sein kann, und einer anliegenden, vollständigen oder unterbrochenen Basalmembran. Die Mehrzahl der Kapillaren weist außen noch Perizyten auf, wobei es sich bei diesen oftmals um undifferenzierte Mesenchymzellen mit einem hohen Grad an Transformationsfähigkeit handelt (LIEBICH 2003a). Entsprechend der morphologischen Beschaffenheit des Endothels und der Basalmembran sowie des Vorkommens an Perizyten, lassen sich drei verschiedene Kapillartypen (geschlossene, gefensterte Kapillaren sowie Sinusoide) unterscheiden, die für bestimmte Organe spezifisch sind (BUSS 1984).

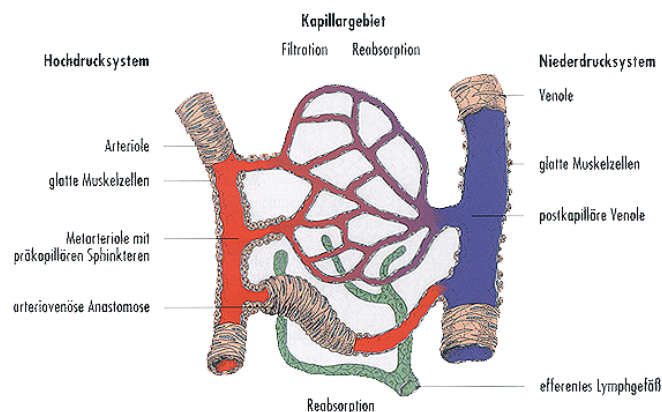


Abb. 2.2: Schematische Darstellung des gefäßspezifischen Hoch- und Niederdrucksystems (LIEBICH 2003a)

### 2.5.3 Venen und Venolen

Die postkapillären Venolen (Ø 8-30 µm) besitzen keine Media, ihnen liegen außen jedoch vermehrt Perizyten an. Erst in den Sammelvenolen (Ø 30-50 µm) und in den kleinsten Venen (= muskuläre Venolen: Ø 50-100 µm) treten glatte Muskelzellen und somit eine Tunica media wieder in Erscheinung (BUSS 1984). In diesen Bereichen ist ein transvasaler Stoffaustausch noch möglich, die Gefäße dienen im gewissen Umfang auch als Blutspeicher (LIEBICH 2003a).

Die Intima venöser Gefäße weist einen geschlossenen Endothelverband auf, dem sich außen eine schwache Bindegewebsschicht (Stratum subendotheliale) anschließt. Neben glatten Muskelzellen sind intimal elastisch-kollagene Fasern nachweisbar. Anstelle einer deutlichen MEI ist ein dünnes Netz elastischer Fasern als sog. „*Rete elastica*“ ausgebildet (LIEBICH 2003a). In den mittelgroßen und großen Venen ist jedoch häufig eine schwach ausgebildete MEI zu erkennen (BUCHER u. WARTENBERG 1989, SMOLLICH 1992a). Als Besonderheit des Niederdrucksystems sind in Venen in regelmäßigen Abständen Intimaduplikaturen ausgebildet, die als Venenklappen bezeichnet werden. Diese erleichtern

den Rückfluss des Blutes zum Herzen und verhindern eine Umkehr der Strömungsrichtung (LIEBICH 2003a). Die Media der Venen ist dünnwandig und schließt vorwiegend kollagene und elastische Fasern ein. Der Anteil an glatten Muskelzellen ist gering (LIEBICH 2003a). Erste zirkulär angeordnete Muskelzellen treten bereits bei Venen von etwa 30 µm im Durchmesser auf (DELLMANN u. VENABLE 1987, SMOLLICH 1992a). In den größeren Venen ist der Gehalt an Mediamyozyten von der örtlichen hydrostatischen und mechanischen Belastung abhängig (BUSS 1984). Die Adventitia geht kontinuierlich aus der Media hervor und bildet einen fließenden Übergang zum umgebenden Gewebe. Neben meist longitudinal angeordneten, elastischen Faserzügen enthält sie als wesentlichen Anteil scherengitterartige Geflechte aus kollagenen Fasern, die als Spannungsfasern fungieren (SMOLLICH 1992a).

#### **2.5.4 Lymphgefäße**

Die Lymphgefäße leiten als Drainagesystem die Gewebeflüssigkeit in das venöse System ab (BUSS 1984). Bei den Lymphkapillaren (10-50 µm) handelt es sich um blind beginnende, äußerst dünnwandige, anastomosierende Gebilde, bestehend aus einem Endothelschlauch (SMOLLICH 1992a). Eine Basalmembran fehlt in den meisten Fällen oder ist über weite Abschnitte durchbrochen (BUSS 1984, GALLAGHER 1992, LIEBICH 2003a). Das Endothelrohr wird von einem zarten, locker gefügten Retikulinfasernetz umhüllt, das das Gefäß zug- und druckelastisch mit seiner Umgebung verbindet (SMOLLICH 1992a).

Der Wandaufbau der größeren, den Lymphkapillaren nachgeschalteten Lymphgefäße gleicht dem sehr dünnwandiger Venen. Mit zunehmendem Kaliber wird der Endothelschlauch von einer dünnen Lage lockeren Bindegewebes umschlossen, unter Beteiligung 1-2 zirkulär angeordneter, glatter Muskelzellschichten (SMOLLICH 1992a). Im Gegensatz zu den Lymphkapillaren, besitzen diese, zur Gewährleistung eines gerichteten Lymphstromes, zahlreiche Klappenventile (BUCHER u. WARTENBERG 1989, LIEBICH 2003a), die jedoch wesentlich dichter angeordnet sind im Vergleich zum venösen System (SMOLLICH 1992a).

#### **2.6 Strukturelle Zusammensetzung der Gefäßwand**

Die unveränderte Gefäßwand ist durch eine reguläre Anordnung von Endothelzellen, glatten Muskelzellen (Myozyten) und Fibroblasten (SAWARD u. ZAHRAKKA 1997) sowie durch das Vorkommen einer „*Extrazellulären Matrix*“ (ECM) charakterisiert, bestehend aus Kollagenen, Elastin, Glykoproteinen, Proteoglykanen sowie komplexen Kohlenhydraten (NIEMANN 2000, RAINES 2000).

### 2.6.1 Zelluläre Bestandteile

#### Endothelzellen:

Bei dem Endothel (Angiothel) handelt es sich um einen geschlossenen, einschichtigen Verband flacher Zellen, der u.a. die Blut- und Lymphgefäße auskleidet (SMOLLICH 2000). Das Angiothel stellt eine effiziente Barriere gegenüber plasmatischen Komponenten dar, es verhindert die Anheftung korpuskulärer Blutbestandteile und ist an der Produktion von funktionell wirksamen Substanzen beteiligt ist (KOCHER et al. 1989). Es greift durch die Bildung von Plasminogen-Aktivator, Fibrinolysin, Thromboplastin, von Willebrandt-Faktor, Prostaglandinen sowie Histamin und Heparin aktiv in gerinnungsphysiologische und entzündliche Vorgänge ein (SCHWARTZ et al. 1978). Außerdem ist es in der Lage, zur Regulation des Gefäßtonus, Angiotensin (BUSS 1984) und Bradykinin aufzunehmen. Unveränderte Endothelzellen sind weiterhin befähigt, durch Bildung sog. „*endothelialer Hemmstoffe*“ Einfluss auf die Funktion und den Phänotyp glatter Muskelzellen auszuüben (RIEDE et al. 1989). Über die Existenz endothelialer Hormonrezeptoren (insbesondere Östrogenrezeptoren) liegen kontroverse Angaben in der Literatur vor. Während AUPPERLE et al. (2000) in den Endothelzellen equiner, endometrialer Gefäße immunhistologisch keine intranukleäre Östrogenrezeptorexpression feststellen konnte, ist KIM-SCHULZE et al. (1996) der Nachweis von Östrogenrezeptoren in Endothelzellen humaner Koronararterien sowie umbilikaler Venen gelungen. Endothelzellen können außerdem unter hypertensischen Bedingungen (*shear stress*) Wachstumsfaktoren, wie z.B. den *platelet-derived growth factor* (PDGF-B) und das Vasokonstriktorpeptid *Endothelin-1* synthetisieren (RIEDE et al. 1989, RESNICK et al. 1993), die die Mediamyozyten und Fibroblasten zur Proliferation sowie teils zur Transformation und Migration anregen (MAYNE 1986, OH et al. 1998). Immunhistologisch darstellbar sind Endothelzellen mittels zellspezifischer Marker [z.B. Faktor VIII-Antigen, CD 31, E-Selectin, Ulex europeus Agglutinin (UEA-1) und VCAM-1 (RATCLIFFE et al. 1999)].

#### Myozyten:

Bei den glatten Muskelzellen handelt es sich um vom Mesoderm abstammende (DRAKE et al. 1998), spindelförmige, teils verzweigte, durchschnittlich 50-100 µm lange Zellen, die, entsprechend ihrer Funktion, über kontraktile Einrichtungen (Myofibrillen) verfügen (SMOLLICH 2000). Ihre hauptsächliche Aufgabe als *vascular smooth muscle cells* (VSMCs) ist es, mittels Kontraktion den Gefäßwiderstand zu regulieren (NILSSON 1987, QIU et al. 1995). In Abhängigkeit von der Lokalisation liegen diese Zellen im Gefäßbereich oftmals nicht vollständig ausdifferenziert vor (THYBERG 1998, PATEL et al. 2000). Sie zeichnen

sich durch eine ausgeprägte Heterogenität aus (SAWARD u. ZAHRADKA 1997, ZALEWSKI et al. 2002), dementsprechend sind zwei verschiedene Subtypen, die „kontraktile“ *k-Form* von der metabolisch aktiven, „synthetischen“ *m-Form*, phänotypisch voneinander zu unterscheiden (RIEDE et al. 1989). Hinsichtlich ihrer Funktion und ihres Zytoskelettaufbaus ähneln synthetisch aktive VSMCs den Fibroblasten (DESMOULIÈRE u. GABBIANI 1995). Eine phänotypische Transformation geht mit einer Abnahme der  $\alpha$ -Aktin-Isoform einher (GABBIANI et al. 1984), resultierend in einer herabgesetzten mechanischen Belastbarkeit der Zellen (MIYAZAKI et al. 2003). Während *k*-Myozyten in erster Linie auf ihrer Kontraktionsfähigkeit beruhende Funktionen besitzen, ist eine gesteigerte Syntheseleistung die wesentliche Eigenschaft der *m*-Myozyten (STAUBESAND 1980). Neben metabolisch-aktiven Eigenschaften verfügen VSMCs noch über enzymatische Aktivitäten (ROBERT et al. 1986). Sie sind in der Lage, Elastase-ähnliche Proteasen zur Degradation elastischer Fasern herzustellen (HORNEBECK u. ROBERT 1986).

#### Fibroblasten / Fibrozyten / Perizyten:

Bei Fibroblasten handelt es sich um mesenchymale, Interzellulärsubstanz (Faserproteine, Glykosamino- und Proteoglykane) bildende Bindegewebszellen. Nach Beendigung der Synthesephase (Fibrillogenese) gehen die Fibroblasten in ihr Ruhestadium (Fibrozyten) über (SMOLLICH 2000). ROSS u. GLOMSET (1973) geben an, dass Fibroblasten in unveränderten Gefäßen ausschließlich innerhalb der Adventitia nachzuweisen sind. Unter dem Einfluss mechanischer Insulte (ZALEWSKI u. SHI 1997), hypoxischer Zustände (STENMARK et al. 2002, SHORT et al. 2004) sowie chemotaktisch wirkender Wachstumsfaktoren wie PDGF, TGF- $\beta$ 1 oder FGF, kommt es zu einer Proliferation adventitialer Fibroblasten mit nachfolgender Transformation zu Myofibroblasten, die für eine gesteigerte Synthese der ECM verantwortlich sind (MOUTHON et al. 2002, GAO et al. 2003). Infolge der phänotypischen Modulation zu Myofibroblasten ist ein transvasales Migrationsverhalten Richtung Media und Intima zu erkennen, was zur Ausbildung einer hyperplastischen Intima beiträgt (LI et al. 2000, SIOW et al. 2003). Ultrastrukturell charakterisiert sind diese Zellen durch den Nachweis von  $\alpha$ -Aktin als zytosolisches Mikrofilament (*stress fibers*) sowie durch das vermehrte Auftreten von rauem endoplasmatischem Retikulum (EYDEN et al. 1994, SHI et al. 1996c).

Perizyten stellen Zellen dar, die ausschließlich in den Wandaufbau von *microvessels* (Kapillaren, postkapilläre Venolen) integriert sind (SMOLLICH 2000). Sie sind für die Regulation der Gefäßpermeabilität zuständig (DE OLIVEIRA 1966), stabilisieren über die



Produktion des *vascular endothelial growth factors* (VEGF) im Rahmen der Angiogenese neu entstandene Endothelzellen (DARLAND et al. 2003) bzw. kontrollieren deren Wachstumsverhalten (ORLIDGE u. D'AMORE 1987). Darüber hinaus besitzen Perizyten die Fähigkeit zur Transformation zu Myozyten (SMOLLICH 2000) sowie zu Makrophagen (LIEBICH 2003a) und verfügen in dem Zusammenhang möglicherweise über phagozytotische Funktionen (CANCILLA et al. 1972).

### 2.6.2 Extrazelluläre Matrix

#### Elastische Fasern:

Ausgereifte elastische Fasern setzen sich aus zwei Hauptkomponenten zusammen. Sie bestehen einerseits aus einem zentralen, amorphen "*Elastin*"-Kern und andererseits aus peripher angeordneten Fibrillin-reichen Mikrofibrillen (KIELTY et al. 2002). Elastin stellt dabei ein Protein dar, das lediglich bei Vertebraten mit einem geschlossenen Bluthochdrucksystem ausgebildet ist. Nicht-Vertebraten (z.B. Tintenfische) mit einem offenen Niederdrucksystem weisen dagegen als amorphe Kernsubstanz das "Elastomer" auf, das funktionell dem "Elastin" der Wirbeltiere entspricht (FAURY 2001).

Die Synthese des Elastins erfolgt im Bereich der Gefäße durch Fibroblasten und VSMCs (PASQUALI-RONCHETTI u. BACCARANI-CONTRI 1997), wobei das intrazellulär synthetisierte, lösliche Vorläuferprotein Tropoelastin zur Ausreifung (*cross-linking*) in den extrazellulären Raum abgegeben wird. Dort erfolgt der biochemische Umbau der Tropoelastin-Moleküle in leichte Ketten, die kovalent durch sog. *cross-linking* einen nunmehr unlöslichen, elastischen Netzverband bilden. Der neu entstandene amorphe Elastin-*core* ist mantelartig von Mikrofibrillen umgeben (MECHAM u. DAVIS 1994, MIDWOOD u. SCHWARZBAUER 2002). Bei diesen peripher gelegenen Mikrofibrillen handelt es sich ebenfalls um Proteine, die sich hauptsächlich aus Fibrillin-1 und Fibrillin-2 sowie aus dem Mikrofibrillen-assoziierten Glykoprotein zusammensetzen (MECHAM u. DAVIS 1994).

Elastin ist nicht nur ein morphologischer Bestandteil der elastischen Fasern, sondern besitzt darüber hinaus noch eine funktionelle, modulierende Bedeutung. Das reife *cross-linked* Polypeptid fungiert innerhalb der Gefäßwand als potenter autokriner Regulator der VSMC-Aktivität, indem es die Proliferation und Migrationsfähigkeit der glatten Muskelzellen inhibiert (KARNIK et al. 2003). Andererseits kann die Elastin-Genexpression in VSMCs durch exogene Einflüsse wie Hypoxie (DURMOWICZ et al. 1994) sowie durch Zytokine wie den *insulin-like-growth-factor-1* (FOSTER et al. 1987) und den *transforming-growth-factor-β* induziert werden (LIU u. DAVIDSON 1988).

### Kollagene Fasern:

In der Literatur sind insgesamt 25 verschiedene Kollagene in den unterschiedlichsten Geweben des Körpers nachgewiesen worden (MYLLYHARJU u. KIVIRIKKO 2001), wobei jedoch nur sechs davon (Kollagen I, III, IV, V, VI, VIII) aus Blutgefäßen isoliert werden konnten (MAYNE 1986). In aktuelleren Veröffentlichungen ist bereits ein weiteres, neues Mitglied der Kollagen-Familie, das Kollagen XXVI, beschrieben, dessen extrazelluläre Expression im Rahmen immunhistologischer Untersuchungen im murinen, neonatalen Ovar sowie im murinen Hoden festgestellt werden konnte (SATO et al. 2002).

Die Synthese der gefäßspezifischen Kollagen-Proteine erfolgt, ähnlich wie beim Elastin, durch VSMCs (mit Ausnahme von Kollagen VIII) und zusätzlich noch durch Endothelzellen (außer Kollagen VI) (MAYNE 1986). Dabei aggregiert die intrazellulär produzierte Vorläuferform des Kollagens (Prokollagen) mittels *self-assembly* (= autonome Synthese) im Extrazellularraum zu Kollagenfibrillen (GAY et al. 1976a, GAY et al. 1976b). Diese zeichnen sich in ausgereiften Kollagenfasern typischerweise durch eine rechtsdrehende Tripel-Helix-Struktur aus (KUIVANIEMI et al. 1997).

### Weitere Bestandteile:

Zu den weiteren Bestandteilen der ECM werden, neben den Proteoglykanen, noch adhäsive Glykoproteine *seu* Nektine (wie z.B. Fibronektine, Vitronektine, Tenascin und Laminin) gezählt (GÖPEL et al. 1997, GRANT u. KLEINMAN 1997). Die adhäsiven Glykoproteine (z.B. Vitronektin) vermitteln Zelladhäsionen, d.h. sie stellen den Kontakt zu den im Bindegewebe eingelagerten Zellen her (PREISSNER 1994). Darüber hinaus sind sie an der Regulation von Gerinnungsvorgängen und Komplementbindungsreaktionen beteiligt (TOMASINI u. MOSHER 1986). Tenascin, als weiteres wichtiges Glykoprotein, stellt unter anderem Bindungsstellen für Proteasen, Proteaseinhibitoren, Wachstumsfaktoren und Hormone bereit (PREISSNER 1994).

## **2.7 Erkrankungen der Gefäße (Angiopathien)**

### **2.7.1 Degenerative Gefäßveränderungen**

Bei degenerativen Angiopathien (Angiosen) handelt es sich definitionsgemäß um metabolische Läsionen, bei denen der Proliferations- und / oder Strukturstoffwechsel entweder im Rahmen einer allgemeinen oder örtlichen Stoffwechsel- oder Durchblutungsstörung beeinträchtigt ist (RIEDE et al. 1989). Angiosen können, entsprechend ihres Gefäßtyps und der Gefäßgröße, in Kapillarosen, Arterioloosen, Arteriosen, Phlebosen und Lymphangiosen

gegliedert werden, weiterhin ist, in Abhängigkeit vom betroffenen Gefäßabschnitt, eine Unterteilung in Intima-, Media-, Adventitia- und Panangiosen möglich (RIEDE et al. 1989). An erworbenen, gefäßspezifischen Stoffwechselstörungen sind, entsprechend der humanmedizinischen Nomenklatur, „*degenerative Lipidosen*“, „*degenerative Proteinosen*“ (Wandödem, fibrinoide Verquellung, hyaline Degeneration, Amyloidose und Elastose), „*zytisch mukoiden Degenerationen*“ sowie „*Kalzinosen*“ zu unterscheiden (BUSS 1984). Die veterinärmedizinische Nomenklatur entspricht dieser Einteilung (DROMMER 1991, DAHME 1999).

Darüber hinaus findet sowohl in der human- als auch veterinärmedizinischen Literatur der Terminus „**Arteriosklerose**“ Erwähnung (RIEDE et al. 1989, DROMMER 1991, DAHME 1999). Bei diesem handelt es sich um einen Überbegriff für eine primär nicht-entzündliche, mit fibrösen Umbauprozessen einhergehende Arterienerkrankung, zu der u.a. auch die beim Menschen weit verbreitete, multifaktoriell bedingte „**Artherosklerose**“ gezählt wird (RIEDE et al. 1989). Die letztere stellt, gemäß der WHO-Definition, eine kombinierte Intima- und Mediaveränderung mit herdförmigen Ansammlungen von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Bindegewebe sowie Kalziumablagerungen dar (RIEDE et al. 1989), die allerdings bei den Haussäugetieren eine eher untergeordnete Rolle spielt (DAHME 1999). Lediglich beim Schwein und bei Vögeln (insbesondere Psittaziden) sind Gefäßveränderungen nachweisbar, die dem Artherosklerose-Typ des Menschen entsprechen (DAHME 1999).

Im Rahmen von arteriosklerotischen Veränderungen können die Gefäße durch Mineralisationsprozesse gekennzeichnet sein (GEDIGK u. TOTOVIC 1990, SUCKER u. LANZER 2000). Beim Pferd sind intramurale Verkalkungen vorwiegend subendothelial im Bereich der Intima als sog. „*asteroide Körperchen*“ in zahlreichen Geweben (v.a. Magen-Darm-Trakt, Kolon) frühestens ab einem Alter von vier Monaten im Bereich arterieller Gefäße nachweisbar (DE OLIVEIRA et al. 1985, DROMMER 1991). Die Ätiopathologie dieser Mineralisationsprozesse ist unklar. Einen Zusammenhang mit einer *Strongylus-vulgaris*- (Larve IV)-Wanderung konnten DE OLIVEIRA et al. (1985) nicht feststellen. Die Autoren führen die lediglich beim Pferd vorkommenden, speziesspezifischen „*asteroiden Körperchen*“ auf den im Kolon physiologischerweise hohen Kalzium-Phosphor-Metabolismus bei dieser Tierart zurück.

Neben intimalen Verkalkungen kann auch die Media von Kalkabscheidungen betroffen sein. Ein Kalziumüberschuss (Hypervitaminose D) wird diesbezüglich als Ursache in Betracht gezogen (NIEDERHOFFER et al. 1997). Ätiologisch kann es sich aber auch um dystrophische Verkalkungen handeln. Von diesen Veränderungen scharf zu trennen sind

vaskuläre Verknöcherungen, da es sich bei denen um echte, mesenchymale Metaplasien handelt. Diese bilden sich insbesondere nach Verkalkungsprozessen oftmals im Bereich der Media aus und werden meist bei alten Pferden im Aortenbogen gefunden (DAHME 1999).

Eine Sonderform unter den degenerativen Angiopathien nimmt die „**Graviditätssklerose**“ ein, die sich im Bereich der intra- und extrauterinen Arterien (A. uterina) im Anschluss an eine Trächtigkeit manifestiert (DROMMER 1991, DAHME 1999). Erstmalige Beschreibungen zur Graviditätssklerose beim Menschen stammen vom Beginn des 20. Jahrhunderts (PANKOW 1906). Veterinärmedizinische Studien zu diesem Thema sind an zahlreichen Tierarten (Rind, Büffel, Pferd, Schwein und Meerschweinchen) vorgenommen worden (MAHER 1959, ALBERT u. BHUSSRY 1967, KAMIYA u. DAIGO 1989, KRIESTEN 1995, GRÜNINGER et al. 1998, KERSTEN 2000, LUDWIG et al. 2001). Im Rahmen der Graviditätssklerose kann mit zunehmender Anzahl an Trächtigkeiten eine Dickenzunahme, Verhärtung und verstärkte Schlängelung der arteriellen Gefäße festgestellt werden (DAHME 1999), die auf eine Kollagenfaserzubildung, eine Zunahme der elastischen Fasern (Elastose) sowie eine Mediaatrophie zurückzuführen sind (PANKOW 1906, ALBERT u. BHUSSRY 1967, KAMIYA u. DAIGO 1989, DROMMER 1991, KRIESTEN 1995, GRÜNINGER 1996, WREDE 1999, LUDWIG 2003).

### 2.7.2 Entzündliche Gefäßveränderungen

Eine entzündliche Alteration der Gefäßwand ist geprägt durch eine Entzündungszellinfiltration und wird als „*Angiitis*“ oder „*Vaskulitis*“ bezeichnet. Der Qualität nach sind seröse, fibrinoide, eitrige, thrombosierende, nekrotisierende, lympho-monozytäre und granulomatöse Entzündungen zu unterscheiden. Bei arteriellen Entzündungsprozessen wird, entsprechend dem Verteilungsmuster auf die verschiedenen Wandschichten, eine Differenzierung in eine End-, Mes-, Periarteriitis, sowie bei Beteiligung aller Gefäßschichten, in eine Panarteriitis vorgenommen. Bei inflammatorischen Alterationen des venösen Systems (Phlebitis) können zwei Grundformen, die „Endophlebitis“ und die „Periphlebitis“ unterschieden werden (DROMMER 1991, DAHME 1999).

Als wichtige pferdespezifische Erkrankungen, die mit einer Entzündung der Gefäßwand einhergehen bzw. diese bedingen, sind die „verminöse Endarteriitis“ durch Larven von *Strongylus vulgaris* hervorgerufen, die „*Endarteriitis obliterans der Zehenarterien des Pferdes*“, die „*Panarteriitis nodosa*“ sowie die „*Virusarteriitis des Pferdes*“ zu nennen (DAHME 1999).

### **2.7.3 Häufigkeit und Vorkommen degenerativer Angiopathien im Bereich des ovariellen Stromas**

Zu den degenerativen Angiopathien im Bereich des Ovars sowie der extraovariellen Gefäße liegen, sowohl in der humanmedizinischen als auch der veterinärmedizinischen Literatur, kaum Angaben vor. Es sind lediglich vereinzelt histologische Untersuchungen zu ovariellen und uterinen Gefäßveränderungen nach der Einnahme von Antikonzeptiva (Östrogen-Gestagen-Kombinationspräparate) bei der Frau bekannt (LINTHORST 1966, PLATE 1967, TEN BERGE 1968, TEN BERGE 1973). Dabei konnte festgestellt werden, dass eine früh begonnene und langfristige Einnahme von oralen Hormonpräparaten zur Antikonception, deutliche Veränderungen der ovariellen Gefäße, insbesondere der mittelgroßen Arterien, in Form starker Sklerosierungen zur Folge hat (TEN BERGE 1968). Als morphologische Alterationen sind in dem Zusammenhang eine solitäre Verdickung der Intima, degenerative Veränderungen der Intima und Media sowie der elastischen Membranen beschrieben (TEN BERGE 1973).

Im Gegensatz dazu hat sich SAURAMO (1954) mit rein altersabhängigen, histologischen und funktionellen Veränderungen des humanen Ovars vom embryonalen Stadium bis zur Pubertät befasst. Der Autor stellt fest, dass erst das geschlechtsreife Ovar der Frau gut ausgebildete muskuläre Arterien im Hilusbereich beherbergt, die jedoch aufgrund bereits stattgefundenener Ovulationen schon erste elastoid-hyaline Degenerationserscheinungen (Mediadegeneration, Neointima) aufweisen. SAURAMO (1954) bezeichnet derartige Alterationen als "*Sklerose*" und grenzt diese von arteriosklerotischen Veränderungen ab, die erst nach der Menopause im Bereich der hilären Arterien in Erscheinung treten.

### **2.7.4 Ovarielle und extraovarielle gefäßspezifische Krankheitskomplexe**

Ovarielle und extraovarielle, gefäßspezifische Krankheitskomplexe sind in der Literatur meist als klinische, humanmedizinische Fallberichte unter Einbezug pathologischer Teilaspekte aufgeführt (MOORE 1965, RODRIGUEZ-GARCIA et al. 1992, KAYA et al. 1994, BALL et al. 1995, LÖNING 2001, HADAS-HALPERN et al. 2002, KELLY et al. 2002, MANABE et al. 2002). Neben entzündlichen Veränderungen können diese Gefäße auch degenerative Alterationen aufweisen. Eine Zusammenstellung der typischen Merkmale der jeweiligen gefäßassoziierten, entzündlichen und degenerativen Krankheiten ist der nachfolgenden Tabelle (Tab. 2.4 auf S. 18) zu entnehmen.

Tab. 2.4: Zusammenstellung ovarieller und extraovarieller, gefäßspezifischer Krankheitskomplexe beim Menschen

Krankheitskomplex	Lokalisation	Gefäßspezifische Merkmale	Autor
<b>Isolierte Polyarteriitis nodosa des Ovars</b>	A. ovarica	- bisher einzige Beschreibung einer isolierten Polyarteriitis nodosa im Bereich des Ovars - hauptsächlich kleine und mittelgroße Arterien betroffen - Histologie: nekrotisierende Vaskulitis (fibrinoide Nekrose) mit Thrombosierung des Gefäßes	KAYA et al. (1994)
<b>Postpartale ovarielle venöse Thrombophlebitis (PPOVT)</b>	V. ovarica	- seltene Form einer postpartalen Komplikation - klinische Diagnose mittels Sonographie: kein nachweisbarer Blutfluss in der V. ovarica - Histologie: keine	HADRASHALPERN et al. (2002)
<b>Riesenzellarteriitis / Giant-cell arteritis (GCA)</b>	Ovarielle Arterien (Hilusbereich)	- Nachweis einer ovariellen Riesenzell-Arteriitis in Verbindung mit einer Arteriitis der A. temporalis <sup>1)</sup> - Diagnosestellung: Nachweis einer Riesenzell-Arteriitis im Genitaltrakt mittels Biopstat aus der A. temporalis <sup>1)</sup> - hauptsächlich kleine Arterien betroffen <sup>2)</sup> - Histologie: Nachweis fibrinoider Nekrosen sowie Riesenzell-reicher, granulomatöser Reaktionen <sup>2)</sup>	<b>1)</b> RODRIGUEZ-GARCIA et al. (1992) <b>2)</b> LÖNING (2001)
<b>„Polycystic ovary syndrome“ (PCOS)</b>	Aorta / A. brachialis	- häufige endokrine Erkrankung des Genitaltraktes, die durch chronische Anovulation und Hyperandrogenismus charakterisiert ist - PCOS ist außerdem noch durch eine metabolische Komponente geprägt (Insulin-Resistenz) - Neue Erkenntnis mittels Sonographie nach experimenteller Gabe von Insulin: Nachweis einer insulinvermittelten, verringerten vaskulären Compliance (= verstärkter Gefäßwiderstand) => Schlussfolgerung: Induktion kardiovaskulärer Veränderungen infolge einer Insulin-Resistenz im Rahmen einer PCOS	KELLY et al. (2002)
<b>Spontane Ruptur der A. ovarica</b>	A. ovarica	- vorwiegend im letzten Drittel der Schwangerschaft und postpartal vorkommend <sup>4)</sup> - Histologie: keine Vorschädigung der Gefäßwand in Form eines Aneurysmas => spontane Ruptur <sup>3)</sup> , Zerstörung der Tunica media mit Ausbildung einer intravasalen, blutgefüllten Höhle <sup>3)</sup>	<b>3)</b> MANABE et al. (2002) <b>4)</b> MOORE (1965)
<b>Pseudoaneurysma der A. ovarica</b>	A. ovarica	- Pseudoaneurysmen treten als Komplikation nach Gefäßoperationen und Arterienpunktaten auf - Diagnose eines Pseudoaneurysmas mittels Doppler-Ultrasonographie - Histologie: keine	BALL et al. (1995)

Legende:

A = Arteria

V = Vena

## 2.8 Ätiologische und pathogenetische Einflussfaktoren auf Angiopathien

Degenerative Angiopathien können durch verschiedenste endogen und exogen einwirkende Einflüsse (Hämodynamik, Hormone, Alter, Gravidität, Zytokine/Wachstumsfaktoren) hervorgerufen werden. Dabei kann der Ursprung der vaskulären Veränderungen sowohl in der Endothelzellschicht (RESNICK et al. 1993), in der Media [VSMCs] (RIEDE et al. 1989) als auch in der Adventitia [Fibroblasten, Entzündungszellen] (OKAMOTO et al. 2001, BAYES-GENIS et al. 2002) liegen.

### 2.8.1 Hämodynamik

Laut Literaturangaben spielt die Hämodynamik im Bereich des Ovars eine besondere Rolle. BRUCE u. MOOR (1976) geben an, dass der Eierstock eines der Organe des tierischen Organismus ist, das über eine sehr hohe arterielle, stromale Blutflussrate - vergleichbar mit der des Herzens, des Gehirnes und der Niere - verfügt. Aufgrund der permanenten, pulsatorischen Belastung des arteriellen Gefäßsystems kommt es insbesondere dort zu vaskulären Anpassungsreaktionen im Sinne arterieller Umbauprozesse (STAUBESAND 1980). Im Gegensatz dazu, ist das venöse, sog. "Niederdrucksystem" aus rheologischer Sicht eher selten von solchen Alterationen betroffen.

### 2.8.2 Endokrinologie

Als Initiatoren vaskulärer Umbauvorgänge werden, neben der Hämodynamik, hormonelle Einflussfaktoren in Betracht gezogen. Hinsichtlich deren Wirkung auf das Gefäßsystem muss allerdings zwischen körpereigenen (ovariellen) und synthetisch hergestellten (z.B. kontrazeptiven) Hormonen bzw. Hormonpräparaten unterschieden werden. *In vivo*-Versuche bei der Ratte haben gezeigt, dass exogen zugeführtes Östradiol den Abbau kollagener und elastischer Fasern verstärkt (FISCHER 1972). Tierexperimentelle Untersuchungen an Kaninchen belegen ebenfalls die protektive Wirkung synthetischer Östrogene (Mestranol-Norethnodrel) im Bereich des Gefäßsystems im Bezug auf die Entstehung atherosklerotischer Plaques (FISCHER et al. 1981). Andererseits existieren Beschreibungen, die besagen, dass sowohl exogen zugeführte Sexualsteroiden als auch endogene Hormone (wie sie in der Schwangerschaft und *post partum* produziert werden) in gleicher Weise zu ähnlich ausgeprägten Gefäßveränderungen (Intimaproliferation) führen (IREY u. NORRIS 1973). Auch FRIEDERICI (1967) stellt im Rahmen ultrastruktureller Untersuchungen an uterinen Kapillaren fest, dass eine exogene Östrogenstimulation negative Auswirkungen auf die Gefäßwand hat. Die vom Autor untersuchten Endothelzellen und Perizyten weisen eine deutliche Aktivierung des zellulären Syntheseapparates mit einer vermehrten Produktion von Mukopolysacchariden, Mukoproteinen und Kollagenen auf. Es wird dementsprechend vermutet, dass Sexual-Steroide (endogene sowie exogene) direkt auf das Gefäßsystem als Zielorgan wirken können (IREY u. NORRIS 1973, DÖCKE 1994). Die dafür notwendigen Hormonrezeptoren sind im Bereich arterieller Gefäße bereits an vielen Organen des weiblichen Genitaltraktes (Uterus, Tuben, Vagina) beim Tier nachgewiesen worden (DÖCKE 1994, AUPPERLE et al. 2000). Über das Vorkommen von Hormonrezeptoren speziell an ovariellen Gefäßen liegen bis zum jetzigen Zeitpunkt in der Literatur allerdings keine Angaben vor.

### 2.8.3 Gestation

Als weitere Ursache für degenerative Gefäßalterationen werden sowohl in der human- als auch der veterinärmedizinischen Literatur Graviditäten angesehen. Die sich im Anschluss an eine Trächtigkeit manifestierenden Angiopathien werden als sog. "*Graviditätssklerose*" bezeichnet (DROMMER 1991, DAHME 1999). Die in erster Linie betroffenen uterinen und extrauterinen Gefäße sind bei Mensch und Tier mit zunehmender Anzahl an Trächtigkeiten durch eine Kollagenfaserzubildung, eine Zunahme der elastischen Fasern (Elastose) sowie z.T. durch eine Mediaatrophie gekennzeichnet (PANKOW 1906, ALBERT u. BHUSSRY 1967, KAMIYA u. DAIGO 1989, DROMMER 1991, KRIESTEN 1995, GRÜNINGER 1996, WREDE 1999, LUDWIG 2003). Insbesondere die Elastose innerhalb der Gefäßwand (v.a. im Bereich der Adventitia) sowie die zunehmenden Duplikaturen der Membrana elastica interna lassen bei einigen Tierarten (Meerschwein, Rind, Schwein) Rückschluss auf die Anzahl der Graviditäten (ALBERT u. BHUSSRY 1967, KAMIYA u. DAIGO 1989, VON SANDERSLEBEN et al. 1989) bzw. die Unterscheidung zwischen Nullipara und Multipara zu (MAHER 1959). Als Ursache für die zunehmende Ablagerung elastischer Fasern im Anschluss an eine Trächtigkeit, wird deren Resistenz gegenüber enzymatischen Prozessen in Betracht gezogen (MAHER 1959). HUGEL (1925) und LANSING (1926) vermuten dagegen, daß das Bild der Graviditätssklerose durch die Anpassungsvorgänge des Organismus an die veränderte lokale Hämodynamik im Anschluss an die Geburt bedingt ist. KAMIYA u. DAIGO (1989) gehen davon aus, dass diese postpartalen Umbauvorgänge sowohl auf rheologische Veränderungen als auch auf hormonelle Einflüsse zurückzuführen sind.

### 2.8.4 Alter

Neben hämodynamischen, hormonellen und graviditätsbedingten Einflüssen spielt auch das fortschreitende Alter ätiopathogenetisch bei der Entstehung degenerativer Angiopathien eine wesentliche Rolle. JONES u. ZOOK (1965) unterscheiden bezüglich des Älterwerdens das "physiologische Altern" vom "pathologischen Altern". Das letzte ist nach Meinung der Autoren durch das Auftreten von Krankheiten (z.B. des kardiovaskulären Systems) und somit durch einen Funktionsverlust gekennzeichnet. Altersbedingte Änderungen am Kreislaufsystem manifestieren sich besonders im Bereich der extrazellulären Matrix (ECM). Insbesondere das Elastin ist, bedingt durch die vermehrte Aktivität von Proteasen und freien Radikalen, von Zerfallsprozessen betroffen (ROBERT et al. 1986). Die elastischen Fasern sind in dem Zusammenhang durch eine Reduzierung der Mikrofilamente, einen Einbau osmiophiler Gruppen (polare Aminosäuren, Kalziumsalze) sowie durch eine Fragmentierung und Desintegration charakterisiert (STADLER u. ORFANOS 1978). Diese altersabhängigen



Modifikationen der ECM gehen außer mit ausgeprägten strukturellen Veränderungen auch mit einer Minderung der Funktion einher (ROBERT 1993). Aus der altersabhängigen Degradation des Elastins resultiert ein verschobenes Kollagen / Elastin-Verhältnis zugunsten des Kollagens, was sich im Bereich des Gefäßsystems in Form einer verstärkten Rigidität der Gefäßwand bemerkbar macht (BADER 1983). Zum gleichen Ergebnis kommen GÖPEL et al. (1997), die immunhistologisch in den Blutgefäßen der menschlichen Tuba uterina eine altersassoziierte Zunahme des Kollagens (Kollagen-Typ I, III, V und VI) feststellen konnten.

Andere Autoren postulieren dagegen das Auftreten einer "*senilen Elastose*" beim Menschen mit fortgeschrittenem Alter. Dabei handelt es sich um plattenförmige Aggregationen von Substanzen, die sich mit der Elastika-Färbung darstellen lassen. Derartige Veränderungen sind besonders an Uterus und Ovarien alter Frauen zu beobachten (BUSS 1984). Auch GRÜNINGER (1996) hat altersabhängige Ablagerungen elastischer Fasern (Perisklerose) im Bereich endometrialer Gefäße von Stuten nachweisen können.

### 2.8.5 Autokrine und parakrine Faktoren

Als weitere ätiopathogenetische Faktoren können innerhalb der Gefäßwand Zytokine und Wachstumsfaktoren fungieren, die von den verschiedenen zellulären Komponenten (Endothelzellen, Mediamyozyten, Fibroblasten) infolge endogener (= *autokriner*) oder exogener (= *parokriner*) Stimuli synthetisiert werden.

#### Endothel:

Endothelzellen sind beispielsweise unter hypertensischen Bedingungen zur Produktion mitogener und chemotaktischer Substanzen (Wachstumsfaktoren) befähigt. RESNICK et al. (1993) geben an, dass es unter *shear stress* (= durch Scherkräfte) in den endothelialen Zellen zur *up*-Regulation des *platelet-derived growth factors* (PDGF-B) kommt. Bei diesem Zytokin handelt es sich um einen *transforming growth factor*, der Mesenchymzellen (adventitielle Fibroblasten) als Zielzellen besitzt und diese zur Proliferation und Transformation zu Myofibroblasten anregt (OH et al. 1998). Bei den Zellen handelt es sich um modifizierte Fibroblasten, die  $\alpha$ -Aktin im Zytoskelett exprimieren und somit morphologische und biochemische Eigenschaften von glatten Muskelzellen (VSMCs) besitzen (SCHÜRCH et al. 1992). Eine myofibroblastische Differenzierung von Zellen wird als wichtiger Indikator für progressive Erkrankungen angesehen (BADID et al. 2000).

Endothelzellen sind nicht nur in der Lage, Einfluss auf den phänotypischen Zustand adventitialer Fibroblasten zu nehmen. Sie sind strukturell-metabolisch noch mit glatten Muskelzellen der Media verkoppelt, was sich darin äußert, dass Endothelien Faktoren

produzieren, die die Mediamyozyten an der Proliferation hindern. Auf diese Weise unterbinden sie die Umwandlung der VSMCs in die metabolisch aktive Form (= *m*-Phänotyp) und fungieren somit als „Mitosebremse“ (RIEDE et al. 1989). Bei wiederholter Schädigung des Endothels, oftmals infolge mechanischer Insulte, fällt diese Schutzfunktion weg und die Mediamyozyten werden empfänglich gegenüber mitogenen Reizen und bilden große Mengen an faserhaltiger Grundsubstanz. Dabei wird die Gefäßwand insbesondere durch Kollagen-Typ I-reiches Fasergewebe verstärkt (RIEDE et al. 1989). MURATA et al. (1986) geben ebenfalls an, dass der Gehalt an Kollagen-Typ I und Kollagen-Typ V mit fortschreitenden, atherosklerotischen Gefäßalterationen ansteigt. Die damit verbundenen Fibrosierungsprozesse haben eine Einschränkung der Funktionsfähigkeit der Mediamuskulatur sowie der elastischen Fasern zur Folge, so dass die aktiv regulierbare Elastizität der Gefäßwand verloren geht (STAUBESAND 1982). Eine Zunahme des intravasal zugebildeten Kollagens wird dementsprechend auch als morphologisches Substrat minderwertiger Gefäßwand-eigenschaften angesehen (FISCHER u. STAUBESAND 1982).

Endothelzellen wird weiterhin noch die Fähigkeit zugeschrieben, unter mechanischer Belastung sowie unter Hypertonie vermehrt Elemente des Zytoskelettes (Mikrotubuli und Mikrofilamente) ausbilden. Sie verfügen dementsprechend über die Fähigkeit zur Motilität (BUSS 1984). Auch SAWARD u. ZAHRAKKA (1997) stellen im Rahmen ihrer *in vitro*-Untersuchungen an porzinen Koronararterien fest, dass Endothelzellen über ein Migrationsvermögen verfügen, das allerdings geringer ausgeprägt ist, als das von VSMCs der Tunica media.

### Media:

Im Hinblick auf die Entstehung degenerativer Angiopathien kommt auch der Media bzw. deren zellulären Komponenten eine wichtige Rolle zu. Eine Aktivierung statischer, kontraktile VSMCs zu metabolisch aktiven, faserhaltige Grundsubstanz bildenden Mediamyozyten kann auf vielseitige Weise erfolgen. Insbesondere der autokrinen Stimulation der VSMCs wird eine gewisse Bedeutung zugesprochen. NILSSON (1987) weist darauf hin, dass glatte Muskelzellen aus dem Bereich der Aorta in der Lage sind, temporär ein PDGF-ähnliches Mitogen zu produzieren, um sich auf diese Weise selbst zu aktivieren. Weiterhin ist eine VSMC-Proliferation noch auf parakrinem Weg durch thrombozytär freigesetzte Zytokine wie TGF $\beta$  (= *transforming growth factor beta*) sowie PDGF möglich (ASSOIAN u. SPORN 1986, MAJACK et al. 1990). Darüber hinaus geben ROSS u. GLOMSET (1976) an, dass eine VSMC-Proliferation auch durch Endothelläsionen, z.B. nach mechanischer Schädigung der Arterienwand, hervorgerufen werden kann. Neben diesen oben aufgeführten Einflussfaktoren

spielt weiterhin noch die Lokalisation der untersuchten arteriellen Gefäße im Bereich des Körpers eine Rolle. Einige Autoren postulieren, dass es sich bei VSMCs um eine heterogene Zellgruppe handelt, deren Morphologie, Wachstum und Migrationsverhalten in Abhängigkeit von der Lokalisation variiert (BOCHATON-PIALLAT et al. 1996). Insbesondere die VSMCs von Koronararterien adulter Individuen zeigen immunhistologisch einen stark ausdifferenzierten Phänotyp im Vergleich zu anderen Lokalisationen (PATEL et al. 2000). Derartige, von Koronararterien abstammende VSMCs besitzen eine relativ geringe Tendenz zur Migration. Während solche, die unter dem Einfluss von Wachstumsfaktoren sowie mechanischer oder hämodynamisch-hypertensischer Insulte (*endothelial injury*) stehen, eine ausgeprägte Migrationsfähigkeit entwickeln und auf diese Weise zur Entstehung einer hyperplastischen Intima (= Neointima) beitragen (CHERVU u. MOORE 1990). Im subendothelialen Spalt angekommen, erfolgt die Proliferation der VSMCs, einhergehend mit einer Bildung großer Mengen extrazellulärer Matrix (NILSSON 1987), was zusätzlich zur Verbreiterung der Intima führt.

#### Adventitia:

Neben der Media, wird von vielen Autoren vor allem der Adventitia eine bedeutende Rolle bezüglich der Pathogenese arterieller Gefäßumbauprozesse zugesprochen. Als ein möglicher stimulierender Faktor werden adventitielle Entzündungszellinfiltrationen mit monozytären Zellen (neutrophile Granulozyten, Makrophagen) angesehen. Diese werden insbesondere nach mechanischen (OKAMOTO et al. 2001) sowie thermischen (BAYES-GENIS et al. 2002) Insulten im Bereich der Gefäßwand chemotaktisch angelockt und sind in der Lage, spezifische Zytokine (Interleukine) und Wachstumsfaktoren (PDGF, TGF  $\alpha/\beta$ , IGF-1, TNF- $\alpha$ ) freizusetzen (MOULIN 1995). Auf diese Weise wird eine Aktivierung der Fibroblasten mit nachfolgender phänotypischer Modulation, Proliferation und transvasaler Migration Richtung Intima sowie eine gesteigerte Synthese der ECM (vermehrte Fibroplasie) induziert.

Daneben besteht die Hypothese, dass diese aus dem Blut stammenden Leukozyten befähigt sind, eine fibroblasten-ähnliche Morphologie anzunehmen (SAPPINO et al. 1990). Einige wenige Autoren vermuten sogar, dass es sich bei Makrophagen im Bereich peritonealen Granulationsgewebes der Ratte, des Kaninchens und der Maus um Vorläuferzellen von Myofibroblasten handelt (CAMPBELL u. RYAN 1983). Auch BAYES-GENIS et al. (2002) postulieren, dass thermisch bedingte Entzündungszellinfiltrationen (Makrophagen) im Bereich der arteriellen Gefäßwand des Schweines als pluripotente Vorläuferzellen von Myofibroblasten fungieren.

Neben einer entzündlichen Komponente können im Bereich der Adventitia noch autokrine und parakrine Einflüsse eine entscheidende Rolle spielen. Zahlreiche, von aktivierten Fibroblasten freigesetzten Zytokine/Wachstumsfaktoren können die fibroblastische Proliferation und phänotypische Transformation beeinflussen. Beispielsweise ist der von stimulierten Fibroblasten synthetisierte Wachstumsfaktor TGF  $\beta$ 1 befähigt, auf autokrinem (endogenem) Wege zur Selbstaktivierung mit nachfolgender myofibroblastischer Differenzierung zu führen. Eine exogene, parakrine Stimulation der Fibroblasten kann, im Gegensatz dazu, wie bereits erwähnt, durch Blutzellen (Thrombozyten) erfolgen, die im Rahmen von Gefäßverletzungen (*vascular injury*) angelockt werden (SHI et al. 1996c). Neben der oben beschriebenen Myofibroblastentransformation, ist TGF- $\beta$  als *fibrotic cytokine* in der Lage, ausgesprochen effizient die Fibrogenese anzuregen. So wird die Kollagen- aber auch die Fibronektinsynthese, außer durch eine Vielzahl anderer Wachstumsfaktoren, am stärksten durch TGF  $\beta$  induziert (IGNOTZ et al. 1987).

Am Wechselspiel der Zytokine und Wachstumsfaktoren können auch *Metalloproteinasen* (MMPs) sowie deren *Tissue inhibitors* (TIMPs) beteiligt sein. Bei den MMPs handelt es sich um zink-abhängige Endopeptidasen, die von adventitialen Fibroblasten, aber auch VSMCs der Media, Endothelzellen und Entzündungszellen (Makrophagen und Lymphozyten) freigesetzt werden (BORDEN u. HELLER 1997). Es ist in der Literatur beschrieben, dass es nach mechanischer Gefäßverletzung unter Kulturbedingungen (*in-vitro*) zu einer vermehrten Synthese von Matrix-Metalloproteinasen kommt, was die Migration aktivierter Fibroblasten aus dem Bereich der Adventitia erleichtert und die Formation einer Neointima zur Folge hat (SHI et al. 1999). Daneben wird den MMPs, aufgrund ihres Enzymgehalts, noch die Fähigkeit zur Degradation der ECM zugeschrieben. Ihre destruiende Aktivität ist jedoch nicht allein verantwortlich für die Entstehung von Gefäßveränderungen, sondern vielmehr bestimmt das Zusammenspiel von MMPs und inhibitorisch wirkenden, extrazellulär lokalisierten TIMPs das Ausmaß der vaskulären Alterationen (FAIA et al. 2002).

## **2.9 Morphologie des equinen Uterus**

### **2.9.1 Anatomischer und histologischer Aufbau**

Der Uterus der Stute ist, entsprechend dem dreischichtigen Wandaufbau des Uterus bicornis der Haussäugetiere, aus einer *Tunica mucosa* (Endometrium), einer *Tunica muscularis* (Myometrium) und einer *Tunica serosa* (Perimetrium) aufgebaut (TRAUTMANN u. FIEBIGER 1931, KENNEY 1978, LIEBICH 2003b).

Die Uterusschleimhaut (Endometrium) besitzt ein einschichtiges, in Abhängigkeit vom Zyklusstand kubisch bis hochprismatisch ausgebildetes, teils kinozilientragendes Oberflächenepithel (LIEBICH 2003b). Die sich anschließende *Lamina propria* (Stroma endometrialis) ist aus spinozellulärem Bindegewebe aufgebaut und schließt in großer Anzahl tubulär verzweigte Uterindrüsen ein (SMOLLICH 1992b, LIEBICH 2003b). Die *Lamina propria* läßt sich, in Abhängigkeit von der Dichte der Stromazellen, in zwei unterschiedliche Bindegewebsschichten unterteilen. Sie gliedert sich in ein subepithelial gelegenes, dünnes, zellreiches, mit zahlreichen Kapillaren ausgestattetes *Stratum compactum* und ein breites, zellarmes *Stratum spongiosum* (KENNEY 1978).

Die Tunica muscularis läßt sich in eine innere, zirkulär und einer äußere, longitudinal verlaufende Schicht glatter Muskelfasern unterteilen, die beide durch ein gefäß- und nervenführendes *Stratum vasculare* getrennt sind (TRAUTMANN u. FIEBIGER 1931, SMOLLICH 1992b).

Die Serosa (Perimetrium) überzieht außen, in Form eines einschichtigen Peritonealepithels (Mesothel) den Uterus. Sie wird von einer *Tela subserosa* und einer ausgeprägten glatten Muskelschicht (*Stratum musculare longitudinale*) unterlagert (LIEBICH 2003b).

## 2.9.2 Vaskularisation des equinen Uterus und Verlauf der extrauterinen Gefäße

Die **arterielle Gefäßversorgung** erfolgt im equinen Uterus auf beiden Seiten durch drei Arterien (GINTHER et al. 1972), die extrauterin im Ligamentum latum uteri verlaufen (TRAUTMANN u. FIEBIGER 1931):

- *A. uterina*
- *A. ovarica (Ramus uterinus)*
- *A. vaginalis (Ramus uterinus)*

Die *A. uterina*, als wichtigste Arterie der drei zuführenden Gefäße, entspringt beim Pferd aus der *A. iliaca externa*. Im Ligamentum latum uteri teilt sie sich nacheinander in mehrere Äste, die divergierend den Rand des jeweiligen Uterushornes erreichen. Nach TRAUTMANN u. FIEBIGER (1931) senden die extrauterin verlaufenden arteriellen Blutgefäße Zweige zur Versorgung der betreffenden Uterusschichten aus. Im Bereich der Schleimhaut (Endometrium) bilden diese periglanduläre und subepitheliale Kapillarnetze (TRAUTMANN u. FIEBIGER 1931).

Die **venöse Drainage** des Stutenuterus erfolgt durch folgende - korrespondierend zu den arteriellen Gefäßen - im Mesometrium verlaufenden Venen (GINTHER et al. 1972, DEL

CAMPO u. GINTHER 1973):

- *V. uterina*
- *V. ovarica (Ramus uterinus)*
- *V. vaginalis (Ramus uterinus)*

Die *V. uterina* ist funktionell wesentlich unbedeutender, da, im Vergleich zum arteriellen System, nicht der *V. uterina* die Funktion des hauptsächlich drainierenden Gefäßes zukommt, sondern den *Rami uterini* der *Vv. vaginales et ovaricae*. Diese beiden werden dementsprechend auch als die Hauptvenen des Uterus angesehen (WILKENS u. MÜNSTER 1984b).

Zur **lymphatischen Versorgung** des Gebärmutter liegen nur wenige Literaturangaben vor. Nach TRAUTMANN u. FIEBIGER (1931) weist der Uterus zahlreiche lymphatische Gefäßstrukturen auf, die ein subseröses Netz bilden. Die größeren Stämme dieser Lymphgefäße verlaufen im *Stratum vasculare* des Myometriums. KENNEY (1978) gibt an, dass das endometriale *Stratum spongiosum* zahlreiche Lymphgefäße aufweist.

## **2.10 Vorkommen und Bedeutung uteriner und extrauteriner degenerativer Angiopathien bei der Stute im Hinblick auf die Fertilität**

Das Vorkommen intrauteriner (endometrialer und myometrialer) sowie extrauteriner, degenerativer Angiopathien ist bei der Stute bereits Gegenstand zahlreicher, in erster Linie licht- und vereinzelt elektronenmikroskopischer Studien gewesen (SCHOON et al. 1994a, KRIESTEN 1995, GRÜNINGER 1996, SCHOON et al. 1997b, SCHOON et al. 1999a, WREDE 1999, KERSTEN 2000, LUDWIG 2003).

**Endometriale Angiosen** sind sehr häufig, qualitativ und quantitativ variabel, mit einer Inzidenz von mehr als 80 % in routinemäßig untersuchten Endometriumbiopsien bei der Stute festzustellen (SCHOON et al. 1997b). Ausschließlich die Gefäße junger Maidenstuten zeigen keine vaskulären Veränderungen, während ältere Maidenstuten überwiegend geringgradige Intima- und Perisklerosen aufweisen. Die arteriellen und venösen Gefäße multiparer, nicht-gravider Stuten sind durch manifeste Intima-, Media- und Adventitiafibroelastosen mit teils destruierendem Charakter und kalzifizierenden Prozessen gekennzeichnet (GRÜNINGER et al. 1998). Die vaskulären Alterationen multiparer Stuten betreffen die gesamte Gefäßwand und gleichen in ihrer Ausprägung der sog. „Graviditätssklerose“ anderer Spezies (SCHOON et al. 1999a). Spezielle Untersuchungen zur Graviditätssklerose bei der Stute sind von WREDE (1999) vorgenommen worden. Dabei konnte festgestellt werden, dass mit jeder Trächtigkeit neben einer Hyperplasie und Hypertrophie der Endothel- und Muskelzellen,

typischerweise eine Zunahme elastischer Fasern im Übergangsbereich zur und innerhalb der Adventitia endometrialer Gefäße zu verzeichnen ist, die nach Abschluss der puerperalen Gefäßinvolution bestehenbleibt (WREDE 1999). Ätiopathogenetisch gesehen, handelt es sich bei den endometrialen Gefäßveränderungen somit im Wesentlichen primär um graviditätsbedingte Alterationen (GRÜNINGER et al. 1998, WREDE 1999), deren Inzidenz und Grad mit der Anzahl der Abfohlungen ansteigt (SCHOON et al. 1999a). Zusätzlich ist eine Abhängigkeit von der Günstzeit offensichtlich (SCHOON et al. 1997b). Bei Stuten, die länger als 2 Jahre güst sind (sog. „Problemstuten“), nimmt die Anzahl mittel- bis hochgradiger Angiosen ab (KRIESTEN 1995, SCHOON et al. 1997a). Diesbezüglich ist anzunehmen, dass die Gefäße güster Stuten, die sich durch verlängerte Trächtigkeitspausen auszeichnen, im gewissen Umfang „Regenerationsprozessen“ unterliegen. Diese Beobachtung trifft jedoch nicht auf alte bis sehr alte Stuten (> 18 Jahre) zu, was als Hinweis auf eine altersbedingte Reparaturmüdigkeit der Gefäßstrukturen zu werten ist (KRIESTEN 1995).

Endometriale Angiosen besitzen in mehrfacher Hinsicht eine fertilitätsrelevante Bedeutung (SCHOON et al. 1999a). Arterielle Gefäßveränderungen (*Arteriosen*) haben eine verminderte endometriale Durchblutung zur Folge. Venöse Angiosklerosen (*Phlebosen*) führen stattdessen über eine reduzierte Drainage zur Lymphstase mit nachfolgender Entstehung eines zyklusasynchronen, persistierenden, pathologischen Schleimhautödems sowie zu Lymphangiektasien und Lymphzysten (SCHOON et al. 1994a). Letztere sind als Ausdruck systemischer uteriner Perfusionsstörungen zu interpretieren (SCHOON et al. 1997b). Überschreiten diese, als Lymphlakunen zusammenzufassenden Lymphgefäßveränderungen (KENNEY u. DOIG 1986) eine kritische Größe, werden sie als endometriale Zysten angesprochen, zu denen neben den Phleb- und Lymphangiektasien auch noch die glandulären Zysten gezählt werden (SCHOON et al. 1993). Diese ins Uteruslumen hineinragenden Zysten können den Spermientransport zu den Tuben einschränken sowie im Falle einer Gravidität die Motilität und die Implantation des frühen Konzeptus beeinträchtigen (GINTHER 1983, LEIDL et al. 1987). MERKT et al. (1991) stellen anhand ihres Untersuchungsgutes ein erhöhtes, durch endometriale Zysten hervorgerufenes Resorptionsrisiko in der Anfangszeit der Trächtigkeit fest. Die fertilitätsmindernde Relevanz endometrialer Zysten wird durch die Untersuchungen von BARTMANN et al. (1997) und SCHÖNING et al. (1997) unterstützt, die beide nach der hochfrequenzchirurgischen Entfernung der Zysten eine verbesserte Trächtigkeitsrate bei den betroffenen Stuten feststellen konnten, obwohl es sich bei dieser therapeutischen Handlungsweise um keine ätiologische, sondern um eine rein symptomatische Maßnahme gehandelt hat.

Neben den beschriebenen Veränderungen (Lymphlakunen, pathologisches Ödem) sollen endometriale Angiosen noch an der Pathogenese der Endometrose bei der Stute beteiligt sein (GRÜNINGER 1996). Ursächlich werden für das progressive Auftreten der Endometrose u.a. chronische, vaskulär vermittelte, endometriale Stauungszustände sowie Minderdurchblutungen angesehen (SCHOON et al. 1999a). Bei der „Endometrose“ selbst handelt es sich um eine speziesspezifische, chronisch-degenerative, endometriale Veränderung, die eine starke Fruchtbarkeitsmindernde Bedeutung besitzt. Definitionsgemäß ist die Endometrose durch periglanduläre und/oder stromale Fibrosen einschließlich einer diffusen oder zirkumskripten Alteration glandulärer Epithelien innerhalb involvierter Areale gekennzeichnet (SCHOON et al. 1995, SCHOON et al. 1997b). Inzidenz und Schweregrad dieser Veränderungen treten deutlich altersassoziiert auf, es besteht keine statistisch gesicherte Abhängigkeit zur Anzahl der Abfohlungen (RICKETTS u. ALONSO 1991, SCHOON et al. 1995, BRACHER et al. 1997). Die Endometrose geht häufig innerhalb der veränderten Einzeldrüsen oder Drüsennester mit einer zyklusasynchronen, glandulären Fehldifferenzierung einher (SCHOON et al. 1995), die eine qualitative und quantitative Veränderung des sekretorischen Proteinmusters (BADER et al. 1997, HOFFMANN et al. 2003) und somit eine fertilitätsrelevante Modifikation des uterinen Milieus zur Folge hat (HEIN 2000). Im Rahmen einer Trächtigkeit besteht dementsprechend die Gefahr der nutritiven Unterversorgung des equinen Fetus sowie das verstärkte Risiko eines „embryonalen oder fetalen Fröhrtodes“ (KENNEY 1978).

Endometriale Angiosen können weiterhin noch einen negativen Effekt auf die Entwicklung der fetalen Plazenta ausüben. Stuten mit ausgeprägten endometrialen Angiopathien weisen eine verringerte Dichte und Verzweigung der Chorionzotten (= niedriger Zottenindex) auf. Der Zottenindex ist negativ mit dem Ausmaß der Angiosen, aber auch dem Alter und der Endometrose korreliert. Eine Veränderung der Chorionzotten infolge von vaskulären (Angiosen) und fibrotischen Veränderungen (Endometrose) kann die Ausbildung der Mikrokotyledonen der Placenta fetalıs nachteilig beeinflussen (KERSTEN 2000).

**Myometriale Gefäße** zeigen qualitative Veränderungen, die den endometrialen Gefäßalterationen entsprechen, graduell sind sie jedoch bei einem Drittel der mittels Endometriumbiopsie routinemäßig untersuchten Stuten stärker ausgeprägt (LUDWIG et al. 2001). PANKOW (1906) gibt stattdessen - allerdings bei der Frau - an, dass die kleinen, lumennahen Gefäße des Endometriums wesentlich stärker alteriert sind, im Vergleich zu den großen, peripheren Gefäßstämmen des Myometriums.



Nach den Untersuchungen von LUDWIG (2003) zeichnen sich die im Ligamentum latum uteri verlaufenden **extrauterinen Gefäße** (*A. und V. uterina*) bei nicht-graviden Stuten durch fibroelastische Alterationen der gesamten Gefäßwand (Panfibrosen und Panfibroelastosen) aus. Die Autorin hat weiterhin, hinsichtlich der quantitativen Veränderungen, eine deutliche Korrelation zwischen den intrauterinen (endometrialen und myometrialen) und extrauterinen, arteriellen Angiosen feststellen können. Demzufolge ist mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Rückschluss von dem Grad endometrialer Angiosen, die mittels Uterusbiopsie erfassbar sind, auf den Grad und die Qualität extrauteriner, arterieller Gefäßalterationen möglich (LUDWIG et al. 2001).

Vergleichende histologische und doppler-sonographische Untersuchungen der *A. uterina* bei der Stute haben ergeben, dass der Grad der fibrotischen Gefäßveränderung eng mit einem erhöhten Gefäßwiderstand korreliert ist (BLAICH et al. 1999, 2001). Der damit einhergehende gesteigerte intravaskuläre Blutdruck kann in Verbindung mit einer bereits degenerativ vorgeschädigten Gefäßwand zu Komplikationen in Form von extrauterinen Gefäßrupturen (z.B. der *A. uterina*) führen. Betroffen sind hiervon besonders ältere, multipare Stuten mit ausgeprägten extrauterinen Gefäßalterationen, die sich im letzten Drittel der Trächtigkeit, unter der Geburt sowie in der Puerperalphase befinden (ROONEY 1979, LOFSTEDT 1994). Neben der *A. uterina* als prädisponiertem Gefäß, können auch die *A. ovarica* sowie die *A. iliaca interna und externa* rupturieren. Pathohistologisch zeichnen sich sowohl die betroffenen extrauterinen Gefäße als auch die kontralateralen Verzweigungen durch eine Fibrose und Elastose der Intima sowie durch eine Mediaatrophie aus (ROONEY u. ROBERTSON 1996).

## **2.11 Bedeutung der Endometriumbiopsie als diagnostisches Hilfsmittel in der Pferdegynäkologie**

Bei Vorliegen von Fertilitätsstörungen kommt der pathohistologischen Untersuchung von Endometriumbiopsieproben eine erhebliche diagnostische und prognostische Bedeutung zu (SCHOON et al. 1992). Sie gilt heute, eingebunden in ein umfassendes klinisches Konzept, international als zuverlässiges, risikoloses, aussagekräftiges Verfahren (SCHOON et al. 1997b). Die Fertilität einer Stute, d.h. die Fähigkeit zur Konzeption und Aufrechterhaltung der Gravidität bis zur Geburt eines lebenden Fohlens wird von zahlreichen uterinen und extrauterinen Faktoren beeinflusst (SCHOON et al. 1992, SCHOON et al. 1994b). Die Entnahme einer Uterusbiopsie, mit deren Hilfe der histologische Status praesens erhoben

wird, liefert diesbezüglich wertvolle Hinweise auf in Frage kommende endometrial oder extraendometrial bedingte Störungen (SCHOON et al. 1992).

Mit Hilfe einer Uterusbiopsie sind histologisch folgende, zum Teil klinisch inapparente Veränderungen im Bereich des weiblichen Genitaltraktes der Stute zu erkennen: Endometritiden verschiedenen Charakters (SCHOON et al. 1997b), Endometrose (RAILA 2000, HOFFMANN et al. 2003), endometriale Fehldifferenzierungen (SCHOON et al. 1999b, HÄFNER et al. 2001, ELLENBERGER et al. 2002) inklusive dem Hydromukometra-Komplex (ÖZGEN et al. 2002) sowie entzündlich und degenerativ bedingte Angiopathien (GRÜNINGER et al. 1998, LUDWIG et al. 2001). Außerdem ist eine Differenzierung endometrialer Zysten unterschiedlichen Ursprungs möglich (SCHOON et al. 1993). Obwohl das bioptisch gewonnene Gewebematerial lediglich zirka 0,1 % des gesamten Endometriums ausmacht, gelten die erhobenen Befunde als repräsentativ (BERGMANN u. KENNEY 1975, WAELCHLI u. WINDER 1989).

## **2.12 Dopplersonographische Blutflussuntersuchungen am Gefäßsystem im Bereich des weiblichen Genitalapparates**

Die Doppler-Sonographie, als nicht-invasive Methode, ist in den letzten 10 bis 15 Jahren primär in der Humanmedizin sowohl zur Darstellung physiologischer Prozesse als auch pathologischer Zustände im Bereich des weiblichen Genitalapparates zum Einsatz gekommen (GLOCK u. BRUMSTED 1995). Bei der Frau wird die sonographische Untersuchung insbesondere zur Darstellung der utero-plazentaren Durchblutung verwendet, um Risikoschwangerschaften prognostisch einzuschätzen (CAMPBELL et al. 1986). Darüber hinaus wird die Doppler-Sonographie im Rahmen der humanmedizinischen Fertilitätsdiagnostik noch als prognostisches Mittel angewandt, um, anhand der ovariellen, stromalen Perfusionsgeschwindigkeit die hormonelle Ansprechbarkeit des Ovars und somit die Aussichten auf die Entwicklung reifer Eizellen zu beurteilen (LUNENFELD et al. 1996, ZAIDI et al. 1996, ENGMANN et al. 1999).

### **2.12.1 Dopplersonographische Untersuchungen im Verlauf des Zyklus**

Transrektale, doppler-sonographische Untersuchungen im Bereich des Genitalapparates, zur Darstellung physiologischer Blutflussveränderungen im Verlauf des normalen Zyklus, finden sowohl in der humanmedizinischen (SCHOLTES et al. 1989, SLADKEVICIUS et al. 1993, TINKANEN et al. 1995, LUNENFELD et al. 1996, TAN et al. 1996) als auch der

veterinärmedizinischen Literatur (NISWENDER et al. 1975, BOLLWEIN et al. 2000, BOLLWEIN et al. 2002b, BOLLWEIN et al. 2002c, WEIN 2003) Erwähnung. Die aufgeführten Autoren haben im Bereich ovarieller sowie uteriner Arterien, unabhängig von der Spezies, zyklisch bedingte Variationen der Perfusionsrate sowie der jeweils untersuchten Dopplerindizes [Resistance-Index (RI), Pulsatility-Index (PI)] feststellen können.

#### Dopplersonographische Untersuchungen am ovariellen Gefäßsystem:

SLADKEVICIUS et al. (1993) weisen bei der Frau, nach erfolgter Ruptur des Graafschen Follikels (beginnende Lutealphase), eine signifikante Abnahme des PI sowie gleichzeitig eine Zunahme der maximalen Blutflussgeschwindigkeit in den ovariellen (stromalen und hilären) Arterien und den Gefäßen im Bereich des größten Follikels bzw. des Corpus luteum nach. Die Autoren stellen fest, dass im Verlauf des Zyklus die Blutflussgeschwindigkeit in der Lutealphase höher und der PI niedriger ist, im Vergleich zur Follikelphase. Diese zyklisch bedingten dopplersonographischen Veränderungen beschränken sich allerdings nur auf das dominante, d.h. auf das Corpus luteum-tragende Ovar. Zu ähnlichen Ergebnissen sind TAN et al. (1996) gekommen, die ebenfalls bei der Frau während des physiologischen Zyklus im dominanten Ovar einen starken Anstieg der ovariellen, stromalen, systolischen Blutflussgeschwindigkeit haben feststellen können. Eine signifikante Änderung des PI ist bei dieser Studie jedoch nicht ermittelt worden.

Die physiologischerweise niedrigen PI-Werte in der Gelbkörperphase sind, gemäß den Untersuchungen von TINKANEN et al. (1994), bei infertilen Frauen nicht nachweisbar. Die ovariellen, aber auch die uterinen Gefäße dieser Frauen zeichnen sich in dieser Zyklusphase durch einen hohen vaskulären Gefäßwiderstand (hoher PI) aus, der sich, aufgrund der unzureichenden Blutversorgung negativ auf die Schwangerschaft auswirken kann. Eine ausreichende uterine Perfusion ist jedoch notwendig, um die Implantation der Blastozyste zugewährleisten (SLADKEVICIUS et al. 1993, TAN et al. 1996). Als unerwünschte Komplikation einer uterinen Minderdurchblutung sind u.a. Aborte beschrieben (TINKANEN et al. 1994). Inwieweit sich die verminderte Durchblutungsrate im humanen Ovar konkret auf die Fertilität auswirkt, ist zu diesem Zeitpunkt unklar und in der Literatur bisher nicht beschrieben. Die bei der Frau nachgewiesenen zyklisch bedingten Schwankungen der Dopplerparameter an den ovariellen Arterien des weiblichen Genitaltraktes sind auch bei den Haussäugetieren, z.B. beim Pferd (MAYER et al. 1998, BLAICH et al. 1999, BOLLWEIN et al. 2002c, WEIN 2003), beim Schaf (NISWENDER et al. 1975) sowie beim Rind (BOLLWEIN et al. 2000) beschrieben. WEIN (2003) hat im Rahmen ihrer Studie die intraovarielle Durchblutung bei normozyklischen Stuten mittels Power-Doppler-Sonographie

untersucht. Der intraovarielle Blutfluss ist im Verlauf des Zyklus durch tägliche Messungen bestimmt und mit Ergebnissen klinischer und histologischer Untersuchungen des Endometriums sowie mit endokrinologisch erhobenen Serumhormonwerten verglichen worden. Wie bereits die humanmedizinischen Untersuchungen zeigen, hat auch WEIN (2003) bei der Stute, im Laufe physiologischer Brunstzyklen, signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten des RI der Corpus-luteum-Phase und der Follikelphase feststellen können. Auch in diesem Fall manifestieren sich die Unterschiede am deutlichsten (statistisch signifikant) am dominanten (gelbkörpertragenden) Ovar. Weiterhin hat die Autorin bei Stuten mit histologisch stark ausgeprägten uterinen Angiosen signifikant höhere RI-Werte im Bereich uteriner Arterien nachweisen können, was sich doppler-sonographisch in einer deutlich niedrigeren ovariellen Durchblutung geäußert hat.

#### Dopplersonographische Untersuchungen am uterinen und extrauterinen Gefäßsystem:

Während WEIN (2003) im Bereich des Ovars keinen Zusammenhang zwischen den Dopplerindizes (PI, RI) zur Darstellung der intraovariellen Perfusion, dem Alter oder dem Reproduktionsstatus erkennen konnte, haben BOLLWEIN et al. (1998) dagegen bei der dopplersonographischen Darstellung der *A. uterina* im Verlauf des Zyklus eine Korrelation zwischen den Dopplerparametern (RI) und der Parität ausmachen können. Die Autoren stellen fest, dass bei multiparen Stuten höhere RI-Werte nachzuweisen sind im Vergleich zu jungen Maidenstuten.

STOLLA u. BOLLWEIN (1997) können im Rahmen ihrer dopplersonographischen Untersuchungen an der *A. uterina* subfertiler Stuten eine deutliche Korrelation zwischen dem Resistenzindex (RI) und dem Endometrosegrad feststellen. Dabei sind, in Abhängigkeit vom Endometrosegrad (und somit der Kategorisierung), differierende RI-Werte, d.h. eine unterschiedliche uterine Durchblutung zu erkennen.

BLAICH et al. (1999) haben ebenfalls, in Abhängigkeit von der Kategorisierung (= qualitatives und quantitatives Klassifizierungsschema zur histologischen Bewertung von Endometriumbiopsien), einen erhöhten extrauterinen Gefäßwiderstand nachweisen können. Stuten, die aufgrund ausgeprägter endometrialer Alterationen der Kategorie IIb und III zugeordnet wurden, zeigen im Bereich der *A. uterina* einen wesentlich höheren vaskulären Widerstand, verglichen mit solchen der Kategorie I und IIa.

### **2.12.2 Dopplersonographische Untersuchungen im Verlauf der Gravidität und des Puerperiums**

Während in der Humangynäkologie eine Vielzahl von Studien über Zusammenhänge zwischen der uterinen Perfusion und der Fruchtbarkeit der Frau vorliegen (STOLLA et al. 2003), gibt es nur wenige Angaben zu dopplersonographischen Blutflussveränderungen im Bereich des Genitalapparates bei graviden Tieren.

WOSCHEE (1999) u. BOLLWEIN et al. (1999) stellen im Rahmen ihrer farbdopplersonographischen Blutflussmessungen an der *A. uterina*, beginnend in der 5. Gestationswoche bis zur Geburt, einen Abfall des Blutflusswiderstandes (RI) auf etwa die Hälfte fest. Im Gegensatz dazu, ist die mittlere Blutflussgeschwindigkeit kontinuierlich auf das Siebenfache angestiegen. Weiterhin war eine Vergrößerung des Durchmessers der *A. uterina* von 3 mm auf durchschnittlich 15 mm nachweisbar. Auch MAYER et al. (1998) haben farbdopplersonographische Studien bei graviden Stuten an der *A. uterina* durchgeführt. Der Untersuchungszeitraum war allerdings auf die ersten 30 Trächtigkeitstage (Frühgravidität) begrenzt. Es fällt auf, dass bereits in diesem frühen Stadium eine verstärkte uterine Durchblutung zu erkennen ist.

Zu vergleichbaren Ergebnissen ist BOLLWEIN et al. (2002a) auch beim graviden Rind gekommen. Ähnlich wie beim Pferd, können die Autoren auf der Implantationsseite des Konzeptus eine kontinuierliche Abnahme des RI in der *A. uterina* sowie eine exponentielle Zunahme des Blutflussvolumen mit fortschreitender Gravidität nachweisen. In der sich anschließenden Puerperalphase kommt es bei der Kuh insbesondere im frühen Puerperium (1 bis 5 Tage *post partum*) in der *A. uterina* zu einem rapiden Abfall des Blutflussvolumens, was mit einer fast sechsfachen Abnahme der uterinen Blutzirkulation einhergeht. Ab dem 5. Tag bis zum 42. Tag pp ist dann ein eher langsames Absinken des Blutflussvolumens zubeoachten (LEIDL et al. 2000).

### 3 Eigene Untersuchungen

#### 3.1 Tiergut

Das Untersuchungsmaterial setzt sich aus den weiblichen Genitalapparaten von insgesamt 60 Stuten zusammen, die im Rahmen der Routinediagnostik zur Durchführung einer Sektion in dem Zeitraum von 1998-2002 in das Institut für Veterinär-Pathologie der Universität Leipzig eingesandt wurden. Die im Verlauf der pathologisch-anatomischen und histologischen Untersuchungen erhobenen Hauptbefunde der sezierten Stuten sind in der Abb. 3.1 dargestellt. Diese graphische Darstellung dient einerseits als Übersicht über das Sektionsgut und liefert andererseits Hinweise hinsichtlich der Interpretation bestimmter Befunde im Bereich des weiblichen Genitaltraktes.

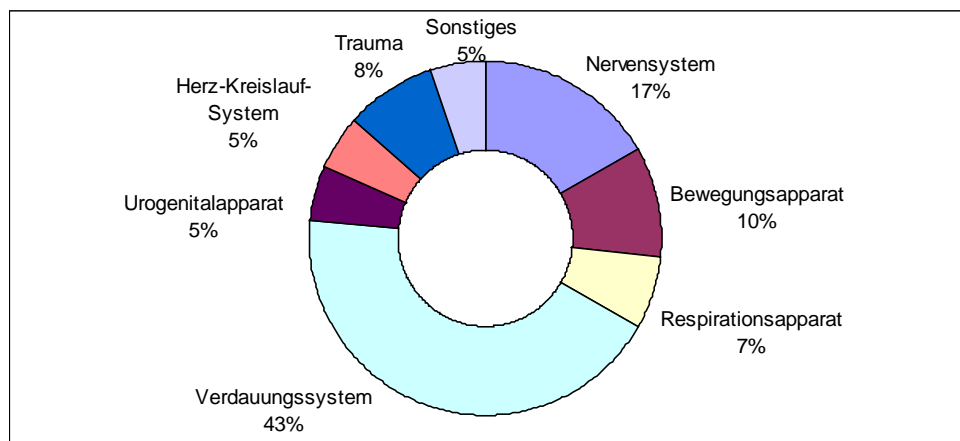


Abb. 3.1: Prozentuale Verteilung der erhobenen Hauptbefunde hinsichtlich der Zuordnung zu den Organsystemen von 60 Sektionsstuten

Die Stuten sind nach dem Alter und dem Reproduktionsstatus in verschiedene Untersuchungsgruppen eingeteilt worden, wobei die Parität mittels histologischer Untersuchung endometrialer Gefäße (*Graviditätssklerose*) in Anlehnung an WREDE (1999) ermittelt worden ist (Tab. 3.1).

Tab. 3.1: Übersicht endometrialer Gefäßbefunde zur Bestimmung der Parität (WREDE 1999)

Parität	Endometriale Gefäßbefunde
Nullipara	Altersassoziierte Befunde
Primipara	Geringgradige Umstrukturierung der Media arterieller Gefäße
Multipara (3-4 Abfohlungen)	Mittelgradige, teils destruierende Panelastosen/Panelastofibrosen, vornehmlich in arteriellen Gefäßen
Multipara (5-6 Abfohlungen)	Destruierende Panelastofibrosen mit deutlicher Mediadysplasie in arteriellen und venösen Gefäßen

Eine detaillierte Auflistung der untersuchten Stuten ist der Tabelle 3.2 sowie der Tabelle 9.1 a-d im Anhang auf S. A-1 bis A-3 zu entnehmen.

Tab. 3.2: Gruppierung der Stuten nach dem Alter und dem Reproduktionsstatus

Gruppe	Identifikation	Anzahl (n = 60)	Alter (d/a)	Durchschnitts- alter (d/a)	Reproduktionsstatus		
					nullipar	primipar	multipar
<b>I</b>	juvenil, präpubertär	n = 9	1d – 365 d	123,6 d	n = 9	n = 0	n = 0
<b>II</b>	adult, zyklierend	n = 41	1,75a – 26 a	9,4 a	n = 13	n = 16	n = 12
<b>III</b>	adult, gravid	n = 7	7a – 15 a	9,8 a	n = 0	n = 5	n = 2
<b>IV</b>	adult, post partum	n = 3	10a – 15 a	13,3 a	n = 0	n = 1	n = 2

Legende: d = Tag      a = Jahr

### 3.1.1 Probenentnahme und Aufbereitung für die Lichtmikroskopie

#### 3.1.1.1 Makroskopische Präparation und Beurteilung

Nach der Exenteration ist der weibliche Genitalapparat, entsprechend eines Protokolls zur Entnahme von Gewebeproben für die Lichtmikroskopie, präpariert worden. Dabei erfolgte am frischtoten, z.T. aber auch geringfügig autolytischen Tierkörper eine vollständige dorsale Eröffnung des Genitaltraktes von der Vulva bis in beide Uterushörner. Die Ovarien wurden entlang ihrer Längsachse longitudinal angeschnitten und hinsichtlich des Vorliegens von Funktionskörpern beurteilt. Entsprechend ihres makroskopischen Erscheinungsbildes sind diese als Funktionskörper der Follikelphase (Tertiärfollikel) oder der Gelbkörperphase (Corpus haemorrhagicum, Corpus luteum in der Blüte, Corpus albicans) identifiziert worden. Die extrauterinen und extraovariellen Gefäße wurden ebenfalls beurteilt, um eventuell vorliegende makroskopische Gefäßveränderungen (z.B. Varizen, Aneurysmen) diagnostizieren zu können.

#### 3.1.1.2 Histologische Aufarbeitung

Nach mindestens 24-stündiger Fixation in 4 %igem, neutral gepuffertem Formaldehyd wurden Gewebeproben aus definierten Lokalisationen aus dem Ovar, dem Uterus und den extrauterinen / extraovariellen Gefäßen entnommen.

Während im Bereich des Uterus durchgängig bei jeder Stute Querschnittsproben aus insgesamt 3 Lokalisationen (Uteruskörper, rechtes und linkes Uterushorn) zur Einbettung gelangten, variierte die Anzahl der Gewebeproben aus den Ovarien in Abhängigkeit vom makroskopischen Befund, d. h. von der Qualität und der Quantität der vorliegenden

Funktionskörper. Zur Probenentnahme wurden in beiden Ovarien sowohl die funktionellen Strukturen als auch das ovarielle Stroma herangezogen. Im Falle des Fehlens von Funktionskörpern (z.B. im Rahmen des Winteranöstrus) sind mindestens zwei stromale Lokalisationen zur lichtmikroskopischen Untersuchung entnommen worden.

Darüber hinaus erfolgte, nach Präparation der extrauterinen und extraovariellen Gefäße, bei jeder Stute die Entnahme von zwei Gefäßproben aus der A. uterina dextra et sinistra sowie der A. ovarica dextra et sinistra (Abb. 3.2). Von jeder Arterie sind jeweils drei Querschnitte und ein Längsschnitt eingebettet worden.

Die Entnahme der korrespondierenden Venen erwies sich aus sektionstechnischen Gründen als schwierig, so dass lediglich von 32 untersuchten Stuten Proben zur Verfügung standen.

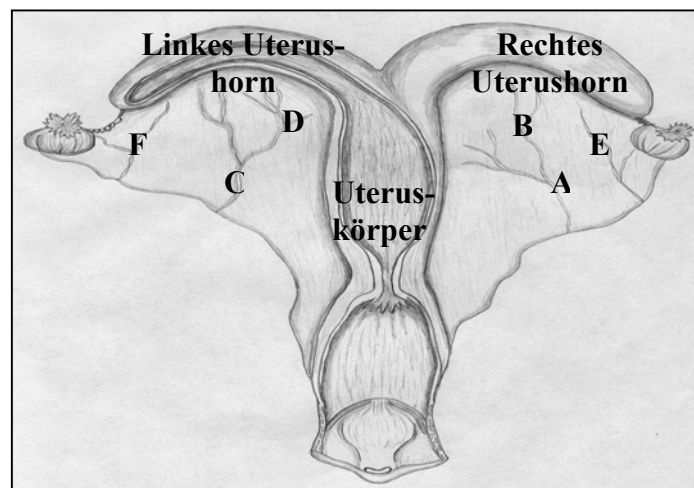


Abb. 3.2: Uterus mit Ovarien und anhaftendem Ligamentum latum uteri, Uteruskörper und linkes Uterushorn dorsal eröffnet, eigenhändig gezeichnet nach SCHUMMER u. VOLLMERHAUS (1987)

- |  |  |
|--|--|
| A = Arteria uterina dextra                   | C = Arteria uterina sinistra                   |
| B = kranialer Ast der Arteria uterina dextra | D = kranialer Ast der Arteria uterina sinistra |
| E = Arteria ovarica dextra                   | F = Arteria ovarica sinistra                   |

Die formalinfixierten Gewebeproben (Ovarien, Uterusquerschnitte und Gefäßproben) wurden nach einem Standardverfahren im Hypercenter XP (Fa. Shandon, Frankfurt) in Paraplast (Fa. Vogel, Giessen) eingebettet, mit Hilfe eines Schlittenmikrotoms (Fa. Reichert-Jung, Wien, Österreich) 3-4 µm dicke histologische Schnitte angefertigt und mit einer Hämatoxylin-Eosin-(H.-E.)-Färbung (ROMEIS 1989) sowie einer modifizierten Pikrosiriusrot-Färbung nach CONSTANTINE (1969) angefärbt (siehe S. 39-40).



### 3.1.2 Lichtmikroskopische Untersuchung

Zur mikroskopischen Auswertung der histologischen Schnitte diente ein Standardmikroskop der Firma Olympus unter Verwendung eines 4er, 10er, 20er und 40er Objektivs. Für polarisationsmikroskopische Untersuchungen gelangte darüber hinaus ein Photomikroskop BH-II (Fa. Olympus Optical Co GmbH, Hamburg) unter Zuhilfenahme eines Polarisationsfilters zur Anwendung.

#### 3.1.2.1 Lichtmikroskopische Beurteilung der Gewebeproben

Die mittels konventioneller Methoden (H.-E.-Färbung) angefärbten Schnitte aus dem Ovar und dem Uterus dienten einerseits der Ermittlung des Zyklusstandes und andererseits der Beurteilung des ovariellen Stromas und der Gefäßstrukturen.

Zur Bestimmung der verschiedenen Zyklusphasen (Proöstrus, Östrus, Postöstrus, Interöstrus, physiologischer Winteranöstrus) erfolgte eine detaillierte pathohistologische Charakterisierung der ovariellen Funktionskörper hinsichtlich des Funktionszustandes (Anbildung, Reife und Regression), analog den Ausführungen von ELLENBERGER (2003). Die histologische Untersuchung der Gebärmutter wurde, wie zuvor beschrieben, an drei Uterusquerschnitten vorgenommen, wobei für die Bewertung des Zyklusstandes die endometriale Differenzierung der uterinen Drüsen herangezogen wurde. Eine Zusammenstellung der charakteristischen Ovarbefunde in Kombination mit dem Uterusbefund, ist, den verschiedenen Zyklusphasen zugeordnet, der Tab. 3.3 zu entnehmen.

Tab. 3.3: Pathohistologische Ovar- und Uterusbefunde in Abhängigkeit vom Zyklusstand nach ELLENBERGER (2003)

Zyklusphase	Ovarbefund	Uterusbefund
<b>Präöstrus</b>	zahlreiche Follikel der Anbildungsphase (teils atretisch), einzelne Corpora lutea in Regression inkl. Corpora albicantia	Proliferation/ Restsekretion
<b>Östrus</b>	zahlreiche Follikel der Anbildungsphase (teils atretisch), Nachweis eines großen, sprungreifen Tertiärfollikels oder eines ovulierten Graafschen Follikels mit partieller Luteinisierung der Follikelwand	Proliferation
<b>Postöstrus</b>	mehrere Corpora haemorrhagica, zahlreiche atretische Follikel, Nachweis einzelner Corpora lutea in Regression	Übergang Proliferation zur Sekretion
<b>Interöstrus</b>	reifes Corpus luteum (Blutestadium); einzelne Corpora lutea in Regression; zahlreiche Follikel (im unterschiedlich fortgeschrittenem Stadium der Atresie)	Sekretion

Die lichtmikroskopische Diagnose der unveränderten uterinen und extrauterinen Gefäßtypen wurde entsprechend den Angaben von KRIESTEN (1995) vorgenommen, während die histomorphologische Definition ovarieller Normalbefunde anhand der Kontrollstuten des

vorliegenden Untersuchungsgutes durchgeführt wurde (Tab. 9.2, Anhang auf S. A-4). Bei den letzteren handelt es sich um junge, postpubertäre Maidenstuten (n=4) im Alter von 2 bis 3 Jahren (Untersuchungsgruppe II). Die Gefäßbefunde dieser Stuten sind als „unverändert“ definiert worden. Die Kontrollgruppe diente weiterhin zur histologischen Charakterisierung der vaskulären Normalbefunde im Bereich der extraovariellen Gefäße, die im Anhang in Tab. 9.3 auf S. A-5 aufgeführt sind.

Die Bewertung der Gefäßveränderungen im Ovar und im Uterus erfolgte analog den Ausführungen von GRÜNINGER (1996) (Tab. 3.4 und Tab. 3.5).

Tab. 3.4: Alterationen der Membrana elastica interna (MEI) nach GRÜNINGER (1996)

Charakter der Veränderung (MEI)	Definition
unverändert	Durchmesser der einschichtigen, undulierenden Lamelle ist für die entsprechende Gefäßgröße normal
verbreitert	Durchmesser der einschichtigen, undulierenden Lamelle ist für die entsprechende Gefäßgröße zu breit
aufgefaser	MEI ist mehrfach aufgefaser oder aufgefranst und hat einen unregelmäßigen Verlauf
nicht vorhanden	MEI fehlt in der Intima vollständig oder kann nicht mehr von den in der Media zugebildeten Fasern unterschieden werden

Tab. 3.5: Gefäßdiagnosen arterieller und venöser Gefäße nach GRÜNINGER (1996)

Charakter der Veränderung	Definition
unverändert	entspricht den Gefäßen junger Maidenstuten
Intimaelastose/ -fibrose/ -fibroelastose	Zubildungen elastischer und/oder kollagener Fasern in der Intima
Intimahyperplasie / Intimahypertrophie	Verbreiterung der Intima durch Hyperplasie und/oder Hypertrophie
Intimapolster	Zirkumskripte Vorwölbung der Intima in das Gefäßlumen, einhergehend mit einer luminalen Einengung
Obturierende / obliterierende Intimahypertrophie	Konzentrische Intimavorwölbung, einhergehend mit einer Lumeneinengung oder einem -verschluss
Mediaelastose/ -fibrose/ -fibroelastose	Zubildungen elastischer und/oder kollagener Fasern innerhalb der Media
Mediahypertrophie/ -hyperplasie	Verbreiterung der Media durch Hyperplasie/Hypertrophie
Mediadysplasie	Zirkumskripte oder diffuse irreguläre Anordnung der Myozyten innerhalb der Media
Mediaatrophie	Zirkumskripte oder diffuse Verdünnung der Media, einfache und numerische Atrophie der Myozyten
Perielastose/ -fibrose/ -fibroelastose	Zubildungen elastischer und/oder kollagener Fasern innerhalb der Adventitia
Panelastose/ -fibrose/ -fibroelastose	Zubildungen elastischer und/oder kollagener Fasern innerhalb der gesamten Gefäßwand
Destruierende Gefäßveränderungen	Zubildungen elastischer und/oder kollagener Fasern mit Destruktion gefäßspezifischer Strukturen

Die vaskulären Alterationen wurden entsprechend ihres Ausprägungsgrades einer Gradeinteilung unterzogen worden:

<b>-unverändert</b>	:	Normalstruktur
<b>-ggr. Veränderung</b>	:	disseminierte ggr. Veränderungen oder 1 Lokalisation mgr. verändert
<b>-mgr. Veränderung</b>	:	disseminierte mgr. Veränderungen oder 1 Lokalisation hgr. verändert
<b>-hgr. Veränderung</b>	:	mehr als 1 Lokalisation hgr. verändert

Die Ableitung der **Gesamtdiagnose** für den histologischen Schnitt erfolgte an mindestens drei Gesichtsfeldern separat für den jeweiligen Gefäßtyp (arteriell oder venös), die jeweilige Gefäßgröße (Kapillaren; Arteriolen und Venolen; kleine, mittelgroße und große Arterien und Venen) sowie für die zu untersuchende Lokalisation (Ovar, Endometrium, Myometrium, extrauterine und extraovarielle Gefäße). Da insbesondere im Bereich des Ovars oftmals mehrere Lokalisationen zur Untersuchung gelangten, wurden die Befunde der einzelnen histologischen Schnitte zu einer übergeordneten Gesamtdiagnose für jede Stute zusammengefasst.

### 3.1.2.2 Histologische Spezialfärbungen

#### 3.1.2.2.1 Pikrosiriusrot-Färbung

Die Gefäßdiagnostik erfolgte unter zur Hilfenahme einer Spezialfärbung, der Pikrosiriusrot-Färbung nach CONSTANTINE (1969), modifiziert nach GRÜNINGER (1996). Bei dieser handelt es sich um eine histologische Methode zur differenzierenden Darstellung der bindegewebigen Faserstrukturen. Histologisch können anhand der Pikrosiriusrot-Färbung folgende zelluläre und extrazelluläre Strukturen dargestellt werden:

• kollagene Fasern	:	rot
• elastische Fasern	:	violett
• saure Mukopolysaccharide	:	blau-türkis
• Zytoplasma glatter Muskelzellen	:	gelb
• Zytoplasma anderer Zellen	:	bräunlich
• Zellkerne	:	braun
• Mastzellen	:	leuchtend blau

Verwendete Färbelösungen:

- 1 %ige Siriusrot-Lösung: 1,25 g Siriusrot F3B 150 (Bayer AG, Leverkusen) in 100 ml Aqua dest. auflösen

- 0,1 %ige Pikrosiriusrot-Lösung: 10 ml 1 %ige Siriusrot-Lösung mit 90 ml wässriger, kalt gesättigter Pikrinsäure-Lösung vermischen, einige Pikrinsäurekristalle hinzugeben, damit die Lösung gesättigt bleibt (sollte nach jeder Anwendung wiederholt werden); 24 Stunden reifen lassen
- Aldehydfuchsin-Lösung (GOMORI 1950): 2,5 g Pararosanilin in 500 ml 70 %igem Ethanol vollständig lösen, anschließend mit 5 ml konzentrierter Salzsäure und 25 ml Paraldehyd vermischen, mindestens 24 Stunden bei Raumtemperatur reifen lassen und anschließend kühl lagern
- Weigert-Eisen-Hämatoxylin-Lösung (PROPHET et al. 1982): Lösung A (1 %ige alkoholische Hämatoxylin-Lösung) und Lösung B (4 ml wässrige 29 %ige Eisen-III-Chlorid-Lösung, 95 ml Aqua dest., 1 ml konzentrierte, rauchende Salzsäure) kurz vor dem Gebrauch im Verhältnis 1 : 1 mischen
- 1 %ige Alzianblau-Lösung, pH 2,5: 1g Alzianblau 8 GX in 100 ml 3 %iger Essigsäure lösen, ein Kristall Tymol zur Verbesserung der Haltbarkeit zugeben, 24 Stunden reifen lassen.

#### **Färberezept :**

1. Entparaffinieren und Rehydrieren der Schnitte
2. Waschen in fließendem Leitungswasser (10 Minuten)
3. Kurzes Eintauchen der Schnitte in 3 %ige Essigsäure
4. Färben in 1 %iger Alzianblau-Lösung (30 Minuten)
5. Waschen in fließendem Wasser (3 Minuten)
6. Eintauchen in 70 %igem Ethanol (zehnmal kurz)
7. Färben in Aldehydfuchsin-Lösung (45 Minuten)
8. Kurzes Eintauchen in 70 %igem Ethanol (je dreimal in 3 Küvetten Ethanol)
9. Waschen in fließendem Leitungswasser (3 Minuten)
10. Färben in WEIGERT-Eisen-Hämatoxylin-Lösung (10 Minuten)
11. Waschen in fließendem Leitungswasser (3 Minuten)
12. Färben in 0,1 %iger Pikrosiriusrot-Lösung (30 Minuten)
13. Waschen in 0,01 %iger HCl (1 Minute)
14. Entwässern (jeweils 2 Küvetten 96 %iges und 100 %iges Ethanol sowie Xylol)
15. Eindecken mit dem Eindeckautomat Tissue-Teck® (Fa. Vogel, Giessen)

#### 3.1.2.2.2 *Von-Kossa-Färbung*

Bei dieser Methode handelt es sich um eine Versilberungstechnik zum Nachweis von kalkhaltigen Bestandteilen (Kalziumsalzen), wobei das in Karbonaten und Phosphaten gebunden vorliegende Kalzium gegen Silberionen ausgetauscht wird, mit anschließender Reduktion zu metallischem Silber. Diese Areale stellen sich im histologischen Schnitt braunschwarz dar (ROMEIS 1989). Die verwendeten Färbelösungen und das Färberezept sind im Kap. 9.4 (Anhang auf S. A-6) aufgeführt.

Als weitere histochemische Verfahren gelangten die „Berliner-Blau-Färbung“ (Eisen-II-Nachweis), die „Verlängerte Ziehl-Neelsen-Färbung“ (zum Nachweis lipoider Substanzen), die „Turnbull-Blau-Färbung“ (Eisen-III-Nachweis) sowie die „PAS-Reaktion“ (Glykogen-Nachweis) bei ausgewählten Schnitten zur Anwendung (siehe Kap. 4.2.2.2.1 sowie Kap. 9.4 im Anhang auf S. A-6 bis A-7).

### 3.1.3 **Polarisationsmikroskopie**

Zur Untersuchung des Ovars kam ein Photomikroskop BH-II (Fa. Olympus Optical Co. GmbH, Hamburg) unter Verwendung eines Polarisationsfilters 473600 zur Anwendung. Anhand dieser Methode lassen sich kollagene Fasertypen aufgrund ihrer unterschiedlichen Doppelbrechung unter polarisiertem Licht unterscheiden. Gemäß den Ausführungen von JUNQUEIRA et al. (1979, 1982) stellen sich Kollagene vom Typ I gelb-rot dar, während Kollagene vom Typ III leuchtend grün erscheinen. Die übrigen Kollagenfasertypen, inklusive der elastischen Fasern sowie die zellulären und extrazellulären Bestandteile, verhalten sich dagegen isotrop und erscheinen grau-schwarz.

### 3.1.4 **Immunhistologische Untersuchungen**

#### 3.1.4.1 **Angewendete Antikörper, Positivkontrollen und Detektionssysteme**

Die immunhistologische Charakterisierung der degenerativen Gefäßveränderungen im Bereich des Ovars (n=17) und der extrauterinen/extraovariellen Gefäße (n=11) ist an repräsentativ ausgewählten Stuten aus allen vier Untersuchungsgruppen erfolgt.

Im Rahmen der immunhistologischen Untersuchung kamen zwei verschiedene Detektionssysteme zum Einsatz. Mit Hilfe der Peroxidase-anti-Peroxidase-(PAP)-Technik (STERNBERGER et al. 1970) wurden Gewebeproben auf die Antigen-Expression mittels monoklonaler und polyklonaler Antikörper gegen Vimentin, Elastin, Kollagen-Typ III,

$\alpha$ -Aktin sowie Laminin überprüft. Der Antikörper gegen Desmin wurde unter Verwendung des DAKO EnVision+<sup>TM</sup>-Systems (Fa. Dako, Hamburg) eingesetzt (Tab. 3.6).

Tab. 3.6: Lokalisation, Reaktionsmuster, Verdünnung und Bezugsquelle der verwendeten Primärantikörper

Primärantikörper	Lokalisation	Reaktionsmuster	Verdünnung	Bezugsquelle
<b>Maus anti-Schwein Vimentin (Clone V9)</b>	Intermediärfilament mesenchymaler Zellen	intrazytoplasmatisch	1:400	M 0725*
<b>Maus-anti-Human Desmin (Clone 1A4)</b>	Intermediärfilament der glatten und quergestreiften Muskulatur	intrazytoplasmatisch	1:400	M 0760*
<b>Maus anti-Human <math>\alpha</math>-Aktin (Clone 1A4)</b>	Mikrofilament der glatten Muskulatur	intrazytoplasmatisch	1:100	M 0851*
<b>Maus anti-Rind Elastin (Clone B4-4)</b>	Bestandteil der extrazellulären Matrix	extrazellulär	1:7000	E 4013***
<b>Maus anti-Human Kollagen-Typ III</b>	Bestandteil der extrazellulären Matrix	extrazellulär	1:25	031510301**
<b>Kaninchen anti-Laminin</b>	Glykoprotein (Bestandteil der Basallamina)	extrazellulär	1:100	L 9393***

Legende: \* DAKO Diagnostica GmbH Hamburg

\*\* Quartett-Immundiagnostica und Biotechnologie GmbH Berlin

\*\*\* Sigma-Aldrich Firmengruppe, Taufkirchen

Die für die Durchführung der Immunhistologie benötigten Lösungen und Puffer, Positivkontrollen, Sekundärantikörper sowie die immunhistologischen Verfahrensschritte, sind im Anhang (Kapitel 9.5 auf S. A-8 bis A-14) zusammengestellt.

### 3.1.4.2 Immunhistologische Beurteilung

Alle sechs verwendeten Primärantikörper unterlagen folgenden Bewertungskriterien. Als positiv wurden in der Schnittebene liegende, hell-bis dunkelbraune, feingranuläre Reaktionsprodukte gewertet, die in den Kontrollschnitten nicht nachweisbar waren. Die Zahl der positiven Zellen wurde geschätzt und in Prozent der Zellen für alle untersuchten ovariellen Strukturen (Stroma, Gefäße) angegeben.

Während die Intermediärfilamente Vimentin und Desmin sowie das Mikrofilament  $\alpha$ -Aktin intrazytoplasmatisch exprimiert wurden, zeigten Kollagen-Typ III und Elastin, als Strukturelemente der extrazellulären Matrix, und Laminin, als Bestandteil der Basalmembran, ein entsprechendes extrazelluläres Reaktionsmuster. Als eindeutig negativ sind homogen beige-farbene Bereiche infolge Plasmainsudationen sowie labortechnisch bedingte Schnittartefakte gewertet worden. Das gleiche trifft auch auf ein granulär angeordnetes, braunes, oftmals

zellassoziertes Pigment (Hämosiderin) zu, das im entsprechenden Kontrollschnitt ebenfalls nachweisbar und somit von einem echten, reaktiven Präzipitat eindeutig abzugrenzen war.

### 3.1.4.3 Semiquantitative Auswertung mit Hilfe eines Gefäßschädigungsindex (GSI)

Um einen Vergleich der Gefäßbefunde aus den unterschiedlichen Lokalisationen des weiblichen Genitalapparates der Stute zu ermöglichen, kam ein semiquantitatives Verfahren in Form eines Gefäßschädigungsindex (GSI) nach LUDWIG et al. (2001) zur Anwendung. Dabei wurde für die arteriellen Gefäße jeder Stute aus dem Ovar, dem Endo- und Myometrium sowie den extrauterinen und extraovariellen Gefäße der GSI errechnet. Dieser setzt sich aus der Summe der Werte für die Beschaffenheit der Membrana elastica interna (MEI) und dem Grad der Faserzubildungen in allen drei Gefäßschichten zusammen (Tab. 3.7). Bei destruierenden Veränderungen der Tunica media ist der Wert mit dem Faktor 2 multipliziert worden. Die Einstufung der Gefäßveränderungen nach dem GSI ist in Tab. 3.8 dargestellt.

Tab. 3.7: Parameter und deren Wichtung für die MEI, Intima, Media und Adventitia

Beschaffenheit der MEI	Wert	Grad der Zubildungen elastischer und/oder kollagener Fasern in der Intima, Media und Adventitia	Wert
unverändert	0	keine	0
ggr. verändert	0,5	ggr. Zubildungen	1
mgr. verändert	1	mgr. Zubildungen	2
hgr. verändert	1,5	hgr. Zubildungen	3
nicht vorhanden	2		

Tab. 3.8: Berechnung und Einstufung der arteriellen Gefäßveränderungen nach dem berechneten GSI

Grad der Schädigung	Wert des GSI
unverändert	0-1
ggr.	>1-5
mgr.	>5-9
hgr.	>9-14

Legende: ggr. = geringgradig  
mgr. = mittelgradig  
hgr. = hochgradig

$$\text{GSI} = \text{MEI} + \text{I} + \text{Mxd} + \text{A}$$

d = 2, bei destr. Mediaveränderungen

MEI = Membrana elastica interna  
I = Tunica intima  
M = Tunica media  
A = Tunica adventitia

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Makroskopische Untersuchungsbefunde an den Ovarien und am Uterus

#### 4.1.1 Makroskopische Ovarbefunde

Bei der makroskopischen Beurteilung des gesamten weiblichen Genitaltraktes sind bei zwei adulten Stuten (Gruppe II und IV) fibrinöse Auflagerungen auf der Ovaroberfläche im Zusammenhang mit einer akuten Peritonitis nachweisbar. In einem Fall können mittelgradige, fibröse Verwachsungen zwischen dem linken Ovar und dem linken Uterushorn festgestellt werden.

Im Rahmen der pathologisch-anatomischen Untersuchung der Ovarien des gesamten Untersuchungsgutes (n=60) sind deutliche makroskopische Unterschiede zwischen den einzelnen Untersuchungsgruppen in Abhängigkeit vom Entwicklungsstand zu erkennen. Die juvenilen, präpubertären Stuten der Gruppe I (n=9) verfügen über Ovarien mit einer Durchschnittsgröße von 3 x 2 x 2 cm. Im Anschnitt sind diese größtenteils durch eine dunkelbraune Farbe des ovariellen Parenchyms gekennzeichnet, das von einer außen anliegenden, beige-farbenen, bindegewebigen Kapsel begrenzt wird. Sie zeichnen sich außerdem durch eine fest-elastische Konsistenz aus. Ovarielle Funktionskörper können makroskopisch auf der Schnittfläche im Bereich der nur angedeutet ausgebildeten Ovulationsgrube gar nicht (n=5) oder nur selten (n=3) in Form einzelner Follikel mit geringem Durchmesser ( $\leq 1$  cm) nachgewiesen werden (juvenile Azyklie).

Im Vergleich dazu weisen die Ovarien der adulten, postpubertären Stuten (n=51) der Untersuchungsgruppen II, III und IV eine Durchschnittsgröße von 8 x 5 x 4 cm auf. Im Rahmen der metrischen Befunderhebung ist eine Mindestgröße von 5,5 x 4 x 3 cm und eine maximale Gesamtgröße von 10 x 6 x 4 cm festgestellt worden. Die Ovarien der postpubertären Stuten zeichnen sich weiterhin, in Abhängigkeit vom Zyklusstand und vom Reproduktionsstatus, durch eine variable Anzahl (3-10) von Follikeln unterschiedlicher Größe ( $\varnothing$  0,2-3 cm) sowie durch den Nachweis einzelner Gelbkörpergewebsstrukturen an einem (n=17) oder, seltener, an beiden (n=10) Ovarien aus. Dementsprechend sind, sowohl auf der Schnittfläche als auch auf der Organoberfläche, sich uhrglasförmig vorwölbende Funktionskörper unterschiedlicher Konsistenz nachweisbar.

Einige wenige (n=4) der adulten, postpubertären Stuten (n=51) befinden sich zum Zeitpunkt der Untersuchung im physiologischen Winteranöstrus. Die Gesamtgröße ihrer Ovarien entspricht der ovariellen Durchschnittsgröße adulter, postpubertärer Stuten. Im Anschnitt sind



sie geprägt durch das Auftreten multipler Follikel ( $\varnothing$  0,2-1,5 cm). Eindeutig identifizierbare Gelbkörpergewebsstrukturen können makroskopisch nicht nachgewiesen werden.

#### **4.1.2 Makroskopische Uterusbefunde**

In 12 % (n=7) der untersuchten Fälle (n=60) können im Bereich des Genitaltraktes pathologische Befunde erhoben werden. Vier Stuten (Gruppe II und IV) weisen entzündliche Veränderungen des Uterus auf. In 2 Fällen (Gruppe II) ist eine geringgradige Endometritis purulenta und in einem Fall (Gruppe II) eine geringgradige eitrig Perimetritis zu verzeichnen. Bei einer postpartalen Stute (Gruppe IV) ist als pathologischer Befund eine mittelgradige hämorrhagische Lochiometra nachweisbar. Bei den übrigen 3 Stuten, ebenfalls aus den Gruppen II und IV, können umfangreiche Blutungen mit z.T. perforierenden Zusammenhangstrennungen im Genitalbereich nachgewiesen werden.

Bei fünf Stuten des Untersuchungsgutes ist eine Trächtigkeit in unterschiedlichen Stadien festgestellt worden (Gruppe III). Die Trächtigkeitsdauer wurde entweder vorberichtlich angegeben oder ist anhand der erhobenen Reifekriterien (Gesamtgewicht, SSL, Behaarung) des Fötus ermittelt (RÜSSE u. GRUNERT 1993).

#### **4.1.3 Makroskopische Gefäßbefunde der extrauterinen / extraovariellen Gefäße**

Im Bereich der extrauterinen und extraovariellen Gefäße aller Untersuchungsstuten (n=60) der Gruppen I-IV konnten makroskopisch keine pathologischen Veränderungen (wie z.B. Varizen, Aneurysmen oder Rupturen) festgestellt werden.

### **4.2 Histologische Untersuchungsbefunde an den Ovarien und am Uterus**

#### **4.2.1 Bestimmung des Zyklusstandes (Gruppe II)**

Von den insgesamt 60 untersuchten Stuten der Untersuchungsgruppen I-IV ist, auf dem Ovar- und Endometriumbefund basierend, mit Ausnahme der graviden (n=7) und postpartalen Stuten (n=3) der Zyklusstand (n=50) bestimmt worden. Dessen Verteilung innerhalb der Stutengruppe II (adult-zyklierend) ist der Tab. 4.1 auf S. 46 zu entnehmen. Als Besonderheit ist in einem Fall eine glanduläre Fehldifferenzierung des Endometriums in Form einer „endometrialen Hyperplasie“ festgestellt worden, weshalb eine Einordnung in eine Zyklusphase nicht erfolgen konnte.

Die juvenilen, präpubertären Stuten (n=9) [Gruppe I] sind nicht Bestandteil der tabellarischen Auflistung, da sie physiologischerweise als azyklisch zu bezeichnen sind.

Tab. 4.1: Zuordnung des Zyklusstandes anhand der Ovar- und Endometriumbefunde (Untersuchungsgruppe II)

Gruppe	Prä- östrus	Östrus	Post- östrus	Inter- östrus	Winter- anöstrus	Hyperplastische endometriale Fehldiff. / zyklus- synchrones Ovar
II (n=41)	n=1	n=7	n=6	n=22	n=4	n=1

Legende: Endometriale Fehldiff. = Endometriale Fehldifferenzierung

## 4.2.2 Histologische Ovarbefunde

### 4.2.2.1 Ovarielle Funktionskörper

Die ovariellen Funktionskörper der Follikel -und Gelbkörperphase, sind, in Anlehnung an ELLENBERGER (2003), histologisch charakterisiert worden (s. Kap. 3.1.2.1). Die quantitative Verteilung der histologisch identifizierten Funktionskörper des gesamten Untersuchungsgutes ist, in Abhängigkeit vom Zyklusstand und dem Reproduktionsstatus, in Tabelle 9.4 im Anhang auf S. A-5 dargestellt.

### 4.2.2.2 Ovariellles Stroma

#### Histomorphologie: Präpubertäre Stuten

Histologisch kann das ovarielle Stroma der juvenilen, präpubertären Stuten (n=9) in einen Rinden- und Markbereich unterteilt werden. Der schmale **Kortex** besteht histologisch hauptsächlich aus unförmigen, kompakt angeordneten, kollagenen Fasern mit eingestreuten, vorwiegend in Gruppen liegenden, teils atretischen Primordial- und Primärfollikeln. Die kortikal eingelagerten kollagenen Fasern sind weiterhin, mittels Polarisationsmikroskopie am Pikrosiriusrot-gefärbten Schnitt, hauptsächlich als Kollagen-I Fasern typisiert worden. Bei den darüber hinaus noch nachweisbaren kortikalen Stromazellen handelt es sich um zytoplasmaarme Zellen mit einem ovalen, euchromatinreichen Zellkern sowie nicht deutlich abgrenzbaren Nucleoli. Hinsichtlich der Vaskularisation liegt lediglich eine Kapillarisation der Rinde vor.

Im Gegensatz dazu stellt sich das **Mark** als breiter, locker angeordneter, bindegewebiger Bereich aus feinen, kollagenen Fasern dar, die sich polarisationsmikroskopisch am Pikrosiriusrot-gefärbten Schnitt vorwiegend als Kollagen-Typ III Fasern charakterisieren lassen. Der Markbereich ist zusätzlich noch durch ein deutlich ausgebildetes Zwischenzell-Lager gekennzeichnet. Bei diesem handelt es sich um eine Ansammlung zytoplasmareicher Zellen, die zum Teil eine hellbraune, feinstaubige bis feinschollige Pigmentierung aufweisen. Die

Gefäßversorgung erfolgt in dieser Schicht durch arterielle, venöse und lymphatische Gefäße unterschiedlicher Größe.

#### Histomorphologie: Postpubertäre Stuten

Im Stroma der adulten, postpubertären Stuten (n=51) ist histologisch keine Unterscheidung in einen kortikalen oder medullären Bereich mehr möglich. Bei diesen stellt sich das ovarielle Stroma durchgängig als ein Gewebe dar, das charakteristischerweise eine wirbelige, teils haarlockenartige Anordnung der kollagenen Fasern zeigt. Die kompakten kollagenen Fasern stellen sich polarisationsmikroskopisch mit gelb-roter Doppelbrechung (Kollagen-Typ I) dar, während die feinen kollagenen Fasern grün (Kollagen-Typ III) erscheinen. Die dazwischen eingebetteten Stromazellen der postpubertären Stuten gleichen morphologisch denen der präpubertären Stuten. Die Gefäßversorgung erfolgt in dieser Schicht ebenfalls durch arterielle, venöse und lymphatische Gefäße unterschiedlicher Größe.

##### *4.2.2.2.1 Stromale Pigmentierung*

Das ovarielle Stroma weist bei 78 % (n=40) der untersuchten adulten Stuten (n=51) eine braune, schollige Pigmentierung auf, die in erster Linie Funktionskörper-(FK)-assoziiert (n=21) im Bereich alter, vernarbter FK (*C. albicans*, *C. fibrosum*) auftritt. Darüber hinaus kann es überwiegend herdförmig (n=16), in seltenen Fällen (n=3) auch diffus verteilt, im Stroma nachgewiesen werden. Das Pigment ist hauptsächlich intrazellulär in Stromazellen, teils auch in Makrophagen (alte FK in Regression) lokalisiert (s. Kap. 4.9.1 auf S. 71-72; Immunhistologie).

Zur Identifikation des Pigmentes sind Spezialfärbungen zum Nachweis von Eisen (Berliner-Blau-Färbung, Turnbull-Blau-Färbung), Glykogen (PAS-Reaktion) sowie von lipoiden Substanzen (Verlängerte Ziehl-Neelsen-Färbung) an ausgewählten histologischen Schnitten einzelner adulter Stuten (n=2) vorgenommen worden. Dabei konnte festgestellt werden, dass es sich bei dem stromalen, intrazellulären Pigment in erster Linie um PAS-positives, Eisen-(II und III)-haltiges Hämosiderin handelt, während im Bereich alter, vernarbter FK vorwiegend ein PAS-positives Lipopigment (Ceroid oder Lipofuszin) nachweisbar war.

Das bei allen juvenilen, präpubertären Stuten (n=9) nachgewiesene, im H.-E.-Schnitt hellbraune Pigment der Medulla ovarii konnte mit Hilfe der Spezialfärbungen als PAS- und Ziehl-Neelsen-positives lipoidhaltiges Material (Ceroid oder Lipofuszin) charakterisiert werden. Der Nachweis von eisenhaltigen Bestandteilen verlief mit negativem Ergebnis.

#### 4.2.2.2.2 Stromale Entzündungszellinfiltration

Im Bereich des ovariellen Stromas ist bei zirka einem Drittel (n=22) der untersuchten Stuten der Untersuchungsgruppen I-IV (n=60) teils diffus verteilt, teils herdförmig aggregiert, eine geringgradige Infiltration mit vornehmlich Lymphozyten (unter Beteiligung einzelner Plasmazellen) und neutrophilen Granulozyten festzustellen. Bei der Hälfte der Stuten (n=11) treten diese Veränderungen bilateral auf, bei zirka einem Viertel (n=6) ist ausschließlich das rechte Ovar, und in 5 Fällen nur das linke Ovar betroffen. Besonders auffallend ist, dass 8 von 9 juvenile Stuten der Untersuchungsgruppe I stromale Entzündungsinfiltrationen aufweisen, deren Ursache aus dem Sektionsbefund nicht abgeleitet werden kann. Bei der Stutengruppe II (adulte, zyklierende Stuten) ist ein mit dem Alter abnehmendes Auftreten der stromalen Entzündungszellinfiltrationen sichtbar (Tab. 4.2, grau unterlegt). Eine Abhängigkeit von der Parität kann nicht festgestellt werden, da die nulliparen (n=6) sowie die multiparen Stuten (n=5) im gleichen Umfang von den entzündlichen Veränderungen betroffen sind (Tab. 4.2).

Im Zusammenhang mit der stromalen Entzündungszellinfiltration lassen sich bei der Hälfte (n=7) der Stuten der Untersuchungsgruppe II (n=14) ursächlich pathologisch-anatomisch Peritonitiden nachweisen. Bei den graviden und postpartalen Stuten der Untersuchungsgruppe III und IV sind derartige stromale Entzündungszellinfiltrationen nicht nachweisbar (Tab. 4.2). Bei 3 der untersuchten 22 Tiere (Untersuchungsgruppen I-IV) kann neben der stromalen Entzündungszellinfiltration noch eine geringgradige perivaskuläre Infiltration arterieller Gefäße (Perivaskulitis) und bei 2 Stuten eine Beteiligung der Gefäßwand (geringgradige Vaskulitis) registriert werden. Die nachgewiesenen entzündlichen Gefäßveränderungen stehen teilweise im Zusammenhang mit den pathologisch-anatomisch und -histologisch erhobenen extragenitalen Befunden, da bei zwei Stuten eine diffuse, exudative Peritonitis, aufgrund zum Teil perforierender Magen-Darmalterationen, festgestellt worden ist.

Tab. 4.2: Vorkommen stromaler Entzündungszellinfiltrationen bei Stuten der Gruppen I-IV in Abhängigkeit vom Reproduktionsstatus und dem Alter

Stuten- alter (Jahr)	I Juvenil (n=9)	II Nullipar (n=13)	II Primipar (n=16)	II Multipar (n=12)	III Gravid (n=7)	IV PP (n=3)	Anzahl
≤ 1a	(8/9)	--	--	--	--	--	(8/9)
1,75a-8a	--	(5/11)	(3/6)	(1/1)	--	--	(9/18)
9a-17a	--	(0/1)	(0/8)	(4/7)	--	--	(4/16)
18a-26a	--	(1/1)	(0/2)	(0/4)	--	--	(1/7)
gesamt	(8/9)	(6/13)	(3/16)	(5/12)	(0/7)	(0/3)	

Legende: a = Jahre

PP = post partum

### 4.2.2.3 Ovarielle Gefäße

#### 4.2.2.3.1 Fibrinoide Gefäßwandverquellungen

Im Rahmen der Untersuchung der ovariellen, stromalen Gefäße anhand H.-E.-gefärbter histologischer Schnitte sind bei insgesamt 20 % (n=12) der untersuchten Stuten, insbesondere im Bereich der Arteriolen und kleinen Arterien, plaqueartige, schwach-eosinophile, intramurale Veränderungen nachweisbar, die mit einer Destruktion gefäßspezifischer Strukturen einhergehen (Abb. 4.6 auf S. 65). Diese Alterationen sind bevorzugt in der Tunica media kleiner Arterien, jedoch auch in Arteriolen, konzentrisch die gesamte Gefäßwand betreffend, nachweisbar. Derartige fibrinoide Gefäßwandverquellungen können im Pikrosiriusrot-gefärbten histologischen Schnitt als Akkumulation kollagener Fasern (Fibrosen) charakterisiert werden und sind somit zu fibrinoiden Gefäßwandnekrosen abzugrenzen. Sie werden hauptsächlich bei mittelalten und alten Stuten der Untersuchungsgruppe II nachgewiesen, wobei multipare Stuten häufiger von den ovariellen Gefäßveränderungen betroffen sind als nullipare und primipare Stuten (Tab. 4.3, grau unterlegt). Eine deutliche Unterscheidung zwischen dem rechten und linken Ovar, hinsichtlich der Inzidenz des Auftretens, ist bei dieser Stutengruppe nicht zu erkennen. Weiterhin kann festgestellt werden, dass die juvenilen Stuten (Untersuchungsgruppe I) sowie die graviden und postpartalen Stuten der Untersuchungsgruppen III und IV keine fibrinoiden Gefäßwandverquellungen im Bereich ovarieller, stromaler Gefäße aufweisen (Tab. 4.3).

Tab. 4.3: Vorkommen fibrinoider Gefäßwandverquellungen bei Stuten der Gruppen I-IV in Abhängigkeit vom Reproduktionsstatus und vom Alter

Stuten- alter (Jahr)	I Juvenil (n=9)	Nullipar (n=13)	II Primipar (n=16)	Multipar (n=12)	III Gravid (n=7)	IV PP (n=3)
≤ 1a	--	--	--	--	--	--
1,75a-8a	--	(1/11)	(0/6)	(0/1)	--	--
9a-17a	--	(0/1)	(2/8)	(4/7)	--	--
18a-26a	--	(1/1)	(1/2)	(3/4)	--	--
	(0/9)	(2/13)	(3/16)	(7/12)	(0/7)	(0/3)

Legende: a = Jahre

PP = post partum

#### 4.2.2.3.2 Asteroide Gefäßwandverkalkungen

Bei einem Fünftel (n=12) des Untersuchungsgutes (n=60) sind histologisch asteroide Gefäßwandverkalkungen, vorwiegend subendothelial in der Intima, vereinzelt in der Media, nachweisbar. Von diesen vaskulären Mineralisierungsprozessen sind im Wesentlichen die

kleinen (n=2) und mittelgroßen (n=10) stromalen Arterien des Ovars betroffen. Zur Identifizierung der subintimalen Kalkablagerungen ist eine Spezialfärbung (von-Kossa-Färbung) an ausgewählten Schnitten einzelner, adulter Stuten (n=2) mit positivem Ergebnis durchgeführt worden. Es ist festzustellen, dass diese Veränderungen bevorzugt bei den mittelalten und alten, multiparen Stuten (n=7) auftreten (Tab. 4.4, grau unterlegt), wobei die Verkalkungen überwiegend im rechten Ovar zu lokalisiert sind. Neben den Stuten der Untersuchungsgruppe II, können derartige Verkalkungsprozesse nur noch bei einer postpartalen Stuten in beiden Ovarien nachgewiesen werden.

Zum Vergleich ist eine histologische Untersuchung des Darmes, insbesondere der enteralen Arterien, vorgenommen worden, um spezifisch „Asteroide Körperchen“ diagnostizieren zu können, die beim Pferd häufig im Rahmen einer darm-assoziierten Endoparasitose (Große Strongyliden) festzustellen sind. Es konnten nur vereinzelt (n=3) vaskuläre Verkalkungsprozesse sowohl im Ovar als auch im Bereich des Darmes festgestellt werden.

Tab. 4.4: Vorkommen asteroider Gefäßverkalkungen bei Stuten der Gruppen I-IV in Abhängigkeit vom Reproduktionsstatus und dem Alter

Stuten- alter (Jahr)	II					
	I Juvenil (n=9)	Nullipar (n=13)	Primipar (n=16)	Multipar (n=12)	III Gravid (n=7)	IV PP (n=3)
≤ 1a	--	--	--	--	--	--
1,75a-8a	--	(2/11)	(1/6)	(0/1)	--	--
9a-17a	--	(0/1)	(1/8)	(4/7)	--	(1/3)
18a-26a	--	(0/1)	(0/2)	(3/4)	--	--
	(0/9)	(2/13)	(2/16)	(7/12)	(0/7)	(1/3)

Legende: a = Jahre

PP = post partum

#### 4.2.3 Histologische Uterusbefunde

Das Endometrium aller untersuchten Stuten (n=60) ist histologisch auf das Vorliegen von degenerativen Schleimhautveränderungen (Endometrose) sowie entzündlichen Alterationen (Endometritis/Perivaskulitis) untersucht worden. In annähernd der Hälfte der Fälle (n=29) sind histologisch degenerative, bei zirka einem Viertel (n=16) der untersuchten Tiere entzündliche endometriale Veränderungen nachweisbar. Es handelt es sich dabei hauptsächlich um gering- bis mittelgradige Endometritiden und Endometrosen, wobei mit fortschreitendem Alter eine Zunahme des Grades der Endometrose zu verzeichnen ist (Tab. 4.5 auf S. 51, grau unterlegt). Eine Abhängigkeit von der Anzahl der Abfohlungen ist nicht ersichtlich. Als degenerative Veränderung sind im Uterus außerdem noch ausgeprägte endo-

und myometriale Angiopathien nachweisbar, die jedoch gesondert im Kap. 4.4.6 auf S. 59 abgehandelt werden.

Tab. 4.5: Verteilung der histopathologischen Uterusbefunde in Abhängigkeit vom Alter und dem Grad der Veränderungen

Alter (Jahr)	Endometrose						Endometritis					
	obB	(+)	+	++	+++	n.b.	obB	(+)	+	++	+++	n.b.
≤ 1a	(9/9)	--	--	--	--	--	(9/9)	--	--	--	--	--
1,75-8a	(9/21)	(3/21)	(5/21)	--	--	(4/21)	(11/21)	(1/21)	(3/21)	--	--	(6/21)
9-17a	(1/22)	(2/22)	(4/22)	(7/22)	--	(8/22)	(11/22)	(1/22)	(3/22)	(4/22)	(1/22)	(2/22)
18-26a	--	--	(2/8)	(4/8)	(2/8)	--	(5/8)	(1/8)	(1/8)	(1/8)	--	--

Legende: (+) = angedeutet  
+++ = hochgradig

+ = geringgradig  
n.b. = nicht beurteilbar

++ = mittelgradig  
obB = ohne besonderen Befund

Zirka ein Viertel (n=16) der untersuchten Stuten weisen im Bereich der Uterusschleimhaut überwiegend eine nicht-eitrige, teilweise auch eitrige Endometritis auf. Diese ist nur vereinzelt (n=5) mit einer Perivaskulitis gleichen Charakters sowie gleichen Grades (Kombinationsbefund) vergesellschaftet (Tab. 4.6, grau unterlegt).

Tab. 4.6: Zusammenstellung uteriner Kombinationsbefunde (Endometritis/Endometrose) sowie (Endometritis/Perivaskulitis) in Abhängigkeit vom Alterationsgrad (Untersuchungsgruppen I-IV)

		Endometrose						Perivaskulitis					
		o.b.B.	(+)	+	++	+++	n.b.	o.b.B.	(+)	+	++	+++	n.b.
Endo- metritis	o.b.B.	n=16	n=3	n=7	n=7	n=1	n=2	--	--	--	--	--	--
	(+)	--	n=1	n=1	n=1	--	--	--	--	--	--	--	--
	+	n=3	n=1	n=1	n=2	--	--	--	--	n=2	--	--	--
	++	--	--	n=2		n=1	n=2	--	--	n=1	n=2	--	--
	+++	--	--	--	n=1	--	--	--	--	--	--	--	--
	n.b.	--	--	--	--	--	n=8	--	--	--	--	--	--

Legende: (+) = angedeutet  
+++ = hochgradig

+ = geringgradig  
n.b. = nicht beurteilbar

++ = mittelgradig  
o.b.B. = ohne besonderen Befund

Darüber hinaus zeichnen sich die präpubertären Stuten (< 1 Jahr) der Untersuchungsgruppe I (n=9) histologisch typischerweise durch ein inaktives Endometrium aus. Lediglich in zwei Fällen (9 Monate alte Stuten) ist eine beginnende Drüsendifferenzierung mit Nachweis einzelner, glandulärer Strukturen im uterinen Stroma zu erkennen. Innerhalb der Gruppe der graviden (n=5) und der postpartalen Stuten (n=2) sind im Bereich des Uterus placentare Strukturen (Mikrokarunkeln) sichtbar. Bei einer Stute (4-Wochen post partum) der Gruppe IV sind physiologischerweise keine Mikrokarunkeln mehr festzustellen.

### **4.3 Histopathologische Untersuchungsergebnisse juveniler Stuten der Untersuchungsgruppe I (Pikrosiriusrot-Färbung)**

Zur näheren Charakterisierung der degenerativen Angiopathien im Bereich der ovariellen, extraovariellen/extrauterinen und uterinen Gefäße ist, wie in Kap. 3.1.2.2 auf S. 39-40 aufgeführt, eine Spezialfärbung (Pikrosiriusrot-Färbung) zur differenzierenden Darstellung von Bindegewebsstrukturen zum Einsatz gekommen.

#### **4.3.1 Histopathologische Befunde ovarieller Gefäße**

##### Arteriellles Gefäßsystem:

Die Arteriolen zeigen bei allen juvenilen Stuten (n=9) keine histopathologischen Veränderungen. Sie entsprechen dem Normalbefund (Tab. 9.2 im Anhang auf S. A-4).

Die kleinen Arterien präsentieren sich, ebenso wie die Arteriolen, als vollkommen unverändert (Abb. 4.3 auf S. 65; Tab. 9.2 auf S. A-4). Die mittelgroßen und großen Arterien weisen eine deutlich ausgeprägte Adventitia, bestehend aus dicht gepackten Schichten kollagener Fasern auf (polarisationsmikroskopisch: Kollagen-Typ I) (Abb. 4.5 auf S. 65). Bei einem Teil der Stuten (n=8) sind zusätzlich im Bereich der Media großer Arterien kollagene Fasern (ggr. Mediafibrose) vorhanden, während derartige Veränderungen bei den mittelgroßen Arterien nur in einem Fall festgestellt werden konnten.

##### Venöses Gefäßsystem:

Die ovariellen Venen der juvenilen Stuten zeigen keine besonderen histopathologischen Befunde (Abb. 4.4 auf S. 65; Tab. 9.2 im Anhang auf S. A-4).

#### **4.3.2 Histopathologische Befunde extraovarieller/extrauteriner und uteriner Gefäße**

Die im Ligamentum latum uteri verlaufenden extrauterinen und extraovariellen Gefäße sowie die uterinen Gefäße sind ebenfalls als „o.b.B.“ befundet worden (Tab. 9.3 auf S. A-5).

### **4.4 Histopathologische Untersuchungsergebnisse adulter, zyklrierender Stuten der Untersuchungsgruppe II (Pikrosiriusrot-Färbung)**

Die Stutengruppe II (n=41) setzt sich aus adulten, zyklrierenden Stuten mit unterschiedlicher Parität zusammen, wobei sich einzelne (n=4) im Winteranöstrus befinden. Die Stuten werden, in Abhängigkeit vom Reproduktionsstatus, der anhand des jeweiligen endometrialen Gefäßbefundes abgeleitet worden ist, in nullipare Stuten (n=13), primipare Stuten (n=16) und multipare Stuten (n=12) unterteilt (s. Kap. 3.1 auf S. 34-35).



#### **4.4.1 Histopathologische Befunde ovarieller Gefäße nulliparer Stuten (Gruppe II)**

Die nulliparen Stuten (n=13) lassen sich in „junge“ Nullipara (21 Monate - 8 Jahre) und „alte“ Nullipara (16 - 19 Jahre) unterteilen.

##### Arteriellles Gefäßsystem:

Degenerative Veränderungen der Arteriolen sind bei 5 von 13 nulliparen Stuten im Alter von 21 Monaten bis 19 Jahren in Form einer gering- bis mittelgradigen Panelastose zu erkennen. Dabei kann festgestellt werden, dass diese Veränderungen bevorzugt bei den älteren Stuten ab einem Alter von 6 Jahren auftreten. Die Arteriolen der übrigen Stuten (n=8) weisen keine Gefäßveränderungen auf (Tab. 4.7 auf S. 57).

Die kleinen Arterien zeichnen sich durch mittelgradige Panfibrosen aus, die bei den nulliparen Stuten in fünf Fällen zu beobachten sind. Bei der überwiegenden Anzahl der Stuten (n=11) sind die mittelgroßen und großen Arterien durch eine geringgradige Intimahyperplasie mit geringgradiger Intima fibrose und subintimaler Akkumulation saurer Mukopolysaccharide gekennzeichnet. Lediglich in 2 Fällen (16 und 19 Jahre alte Stuten) können derartige Veränderungen mit mittlerem Ausprägungsgrad festgestellt werden. Oftmals ist noch eine deutliche Fragmentierung und Irregularität der MEI sichtbar (n=7). Große Arterien weisen darüber hinaus gering- bis mittelgradige Ablagerungen kollagener Fasern in der Media auf (n=8) (Tab. 4.7 auf S. 57).

##### Venöses Gefäßsystem:

Die histologischen Befunde des venösen Gefäßsystems entsprechen bei 7 Stuten dem Normalbefund. Bei den übrigen Stuten (n=6) zeichnen sich die stromalen Venen, unabhängig von der Gefäßgröße, durch gering- bis mittelgradige Ablagerungen elastischer Fasern im Bereich der Adventitia (ggr.- mgr. Perielastose) aus (Tab. 4.7 auf S. 57). Es kann festgestellt werden, dass diese Perielastosen ebenfalls primär altersassoziiert, ab einem Alter von 8 Jahren, im venösen Gefäßsystem nachzuweisen sind.

#### **4.4.2 Ovarielle Gefäßbefunde primiparer Stuten (Gruppe II)**

Die primiparen Stuten (n=16) lassen sich, ebenfalls in Abhängigkeit vom Alter, in „junge“ Primipara (4 bis 9 Jahre) und „alte“ Primipara (13 bis 26 Jahre) einteilen.

##### Arteriellles Gefäßsystem:

Im Bereich der Arteriolen sind bei der Hälfte (n=8) der primiparen Stuten (n=16) keine Gefäßveränderungen festzustellen. Die arteriolen Gefäße der übrigen Stuten (n=8) zeigen

dagegen mittel- bis hochgradige Panelastosen, wobei sechs dieser Tiere ein fortgeschrittenes Alter von 15 bis 26 Jahren aufweisen (Tab. 4.7 auf S. 57).

Kleine Arterien sind entweder von intimalen Veränderungen (geringgradige Intima fibrose) oder durch Panfibrosen betroffen. Während geringgradige Intima fibrosen nur vereinzelt (n=4) nachweisbar sind, können mittelgradige Panfibrosen bei 12 von 16 primiparen Stuten festgestellt werden (Tab. 4.7 auf S. 57).

Die gesamte Gruppe der primiparen Stuten (n=16) ist im Bereich der mittelgroßen und großen Arterien durch eine gering- bis mittelgradige Intima fibrose mit geringgradiger Hyperplasie und Vakuolisierung der intimalen Zellen, sowie durch geringgradige, subintimale Ablagerungen saurer Mukopolysaccharide (n=7) gekennzeichnet. Bei einigen Stuten (n=11) ist zusätzlich noch im Bereich der mittelgroßen und großen Arterien eine Beteiligung der Media, in Form einer gering- bis mittelgradigen Media fibrose, zu beobachten. Besonders deutlich (mit mittlerem Ausprägungsgrad) sind diese degenerativen Veränderungen, bei einigen älteren ( $\geq 15$  Jahre) Stuten (n=7) ausgebildet (Abb. 4.1 und Tab. 4.7 auf S. 57).

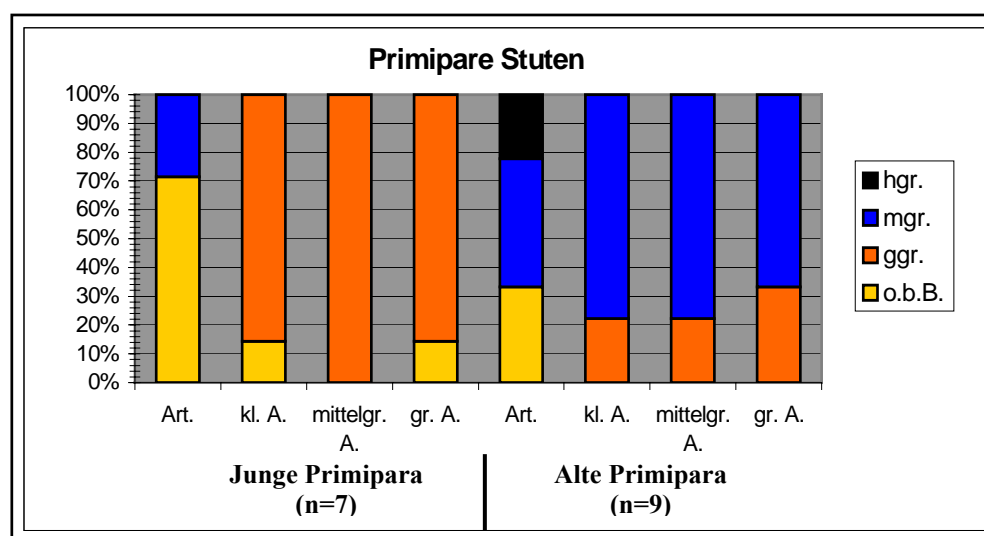


Abb.4.1: Häufigkeitsverteilung ovarieller Arteriolen und Arteriosen adulter, primiparer Stuten in Abhängigkeit vom Alter (Untersuchungsgruppe II)

#### Venöses Gefäßsystem:

Im Bereich der ovariellen Venen können bei einigen Stuten gering- bis mittelgradige Perielastosen (n=7) nachgewiesen werden. In vier Fällen sind geringgradige Panfibrosen zu erkennen. Auch diese Veränderungen sind in erster Linie bei den alten Stuten (n=8) nachweisbar. Die kleinen, mittelgroßen und großen Venen der übrigen Stuten (n=5) zeigen keine degenerativen Alterationen (Tab. 4.7 auf S. 57).

#### 4.4.3 Histopathologische Befunde ovarieller Gefäße multiparer Stuten (Gruppe II)

Die multiparen Stuten sind, ebenso wie die nulli- und primiparen Stuten, in zwei Altersgruppen eingeteilt worden. Als „junge“ Stuten sind solche mit einem Alter von 7 bis 12 Jahren (n=5) definiert, während die „alten“ Stuten ein Alter von 15 bis 24 Jahren (n=7) aufweisen.

##### Arteriellles Gefäßsystem:

Die Arteriolen der multiparen Stuten zeigen in 10 der 12 untersuchten Fälle eine mittel- bis hochgradige Panelastose, wobei die hochgradigen Veränderungen fast ausnahmslos bei den älteren Multipara (n=6) im Alter von 15 bis 24 Jahren nachzuweisen sind (Abb. 4.2 auf S. 56). Weiterhin ist in jeweils einem Fall sowohl eine mittelgradige Perielastose als auch eine geringgradige Panfibroelastose festzustellen (Tab. 4.7 auf S. 57).

Alle untersuchten multiparen Stuten (n=12) sind im Bereich der mittelgroßen und großen Arterien, primär in Abhängigkeit von der Parität, durch das Auftreten vorwiegend elastischer Fasern innerhalb der Intima charakterisiert. Mit zunehmendem Alter und der Anzahl der Abfohlungen, sind diese Stuten zusätzlich noch durch Ablagerungen kollagener Fasern in der Intima und in der Media (kombinierte Intima- und Mediafibrosen) gekennzeichnet (n=12). In Abhängigkeit vom Alter und der Parität lassen sich graduelle Unterschiede nachweisen, weshalb eine Differenzierung in zwei Alterationstypen vorgenommen worden ist.

##### Alterationstyp 1:

Von diesem Alterationstyp sind primär die **jungen und mittelalten Stuten** im Alter von **7 bis 12 Jahren** (n=5) mit **2-3 Abfohlungen** betroffen. Diese sind vorwiegend durch mittel- bis hochgradige, teils destruierende Intimaelastofibrosen in Kombination mit einer gering- bis mittelgradigen intimalen Hyperplasie und Vakuolisierung gekennzeichnet (Tab. 4.7 auf S. 57). Eine Fragmentierung und Auffaserung der MEI kann bei diesen Stuten sehr häufig (n=4) beobachtet werden. Bei allen Stuten (n=5) ist auch eine mittelgradige Mediafibrose nachweisbar (Tab. 4.7 auf S. 57). Eine degenerative Veränderung der Adventitia liegt bei diesem Alterationstyp nicht vor.

##### Alterationstyp 2:

Die mittelgroßen und großen Arterien der älteren Stuten im **Alter von 15 bis 24 Jahren** (n=7) mit **mehreren Abfohlungen** sind typischerweise durch mittel- bis hochgradige, teils destruierende Alterationen der Intima (n=7) geprägt, die qualitativ denen der jungen Stuten

gleichen (Tab. 4.7 auf S. 57). Oftmals sind diese ovariellen Gefäße noch durch destruierende Mediafibrosen/ -fibroelastosen (n=5) sowie, im fortgeschrittenen Stadium, durch hochgradige, teils destruierende Panfibrosen/ -Panfibroelastosen (n=6) gekennzeichnet (Tab. 4.7 auf S. 57).

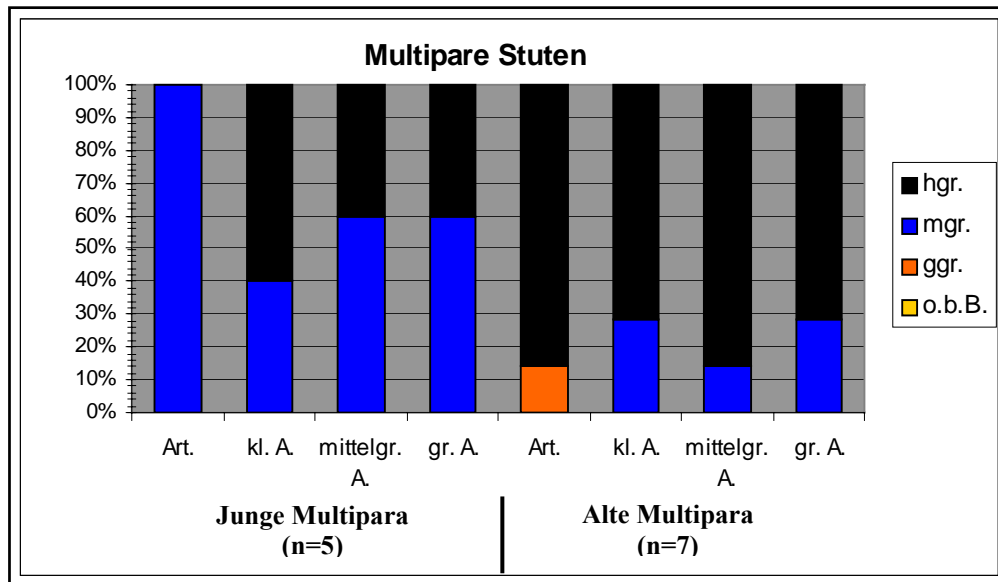


Abb. 4.2: Häufigkeitsverteilung ovarieller Arteriolen und Arteriosen adulter, multiparer Stuten in Abhängigkeit vom Alter (Untersuchungsgruppe II)

#### Venöses Gefäßsystem:

Die ovariellen Venen von 11 der 12 multiparen Stuten sind durch gering- bis mittelgradige Perielastosen charakterisiert (Abb. 4.8 auf S. 65). Von den Veränderungen sind hauptsächlich die kleinen und mittelgroßen Venen betroffen. Lediglich bei einer Stute präsentieren sich die venösen Gefäße als vollkommen unverändert (Tab. 4.7 auf S. 57). Bei den multiparen Stuten ist, bezüglich des Auftretens venöser Perielastosen, im Gegensatz zu den nulli- und primiparen Stuten, keine Abhängigkeit vom Alter zu verzeichnen.

#### **4.4.4 Vorkommen der Alterationstypen in Abhängigkeit von der Lokalisation**

Die stromalen Gefäßbefunde des rechten und des linken Ovars jeder einzelnen multiparen Stute (Untersuchungsgruppe II) sind miteinander verglichen worden. Es konnte festgestellt werden, dass, in Abhängigkeit von der Lokalisation, eine unilaterale Dominanz eines Alterationstypes bei den multiparen Stuten der Untersuchungsgruppe II nicht vorliegt.

Eine Zusammenstellung der ovariellen histopathologischen Gefäßbefunde der juvenilen Stuten der Untersuchungsgruppe I sowie der nulli-, primi- und multiparen Stuten der Stutengruppe II ist im Detail in der Tab. 4.7 auf S. 57 dargestellt.

Tab. 4.7: Übersicht über die ovariellen, stromalen Arteriolen, Arteriosen und Phlebosen der Stutengruppen I und II in Abhängigkeit vom Alter und der Parität

Gruppe	Anzahl	Arteriolen	kleine A.	mittelgr. A.	große A.	Venen
Juvenile Stuten	n=9	o.b.B. (9/9)	o.b.B. (9/9)	+ MF (1/9) o.b.B. (8/9)	+ MF (8/9) o.b.B. (1/9)	o.b.B. (9/9)
Junge Nullipara	n=11	+ PanE (3/11) o.b.B. (8/11)	+ IF (8/11) + PanF (3/11)	+ IF (11/11)	+ IF (11/11) <u>mit</u> + MF (6/11)	+ PeE (4/11) o.b.B. (7/11)
Alte Nullipara	n=2	++ PanE (2/2)	++ PanF (2/2)	++ IF (2/2)	++ IF (2/2) <u>mit</u> ++ MF (2/2)	+ / ++ PeE (2/2)
Junge Primipara	n=7	++ PanE (2/7) o.b.B. (5/7)	+ IF (4/7) + PanF (3/7)	+ IF (7/7) <u>mit</u> + MF (4/7)	+ IF (7/7) <u>mit</u> + MF (4/7)	+ PeE (1/7) + PanF (2/7) o.b.B. (4/7)
Alte Primipara	n=9	++ / +++ PanE (6/9) o.b.B. (3/9)	++ PanF (9/9)	+ / ++ IF (9/9) <u>mit</u> ++ MF (7/9)	+ / ++ IF (9/9) <u>mit</u> ++ MF (7/9)	+ / ++ PeE (6/9) + / ++ PanF (2/9) o.b.B. (1/9)
Junge Multipara	n=5	++ PanE (4/5) ++ PeE (1/5)	++ / +++ destr. PanF (5/5)	++ / +++ destr. IEF <u>mit</u> ++ MF (5/5)	++ / +++ destr. IEF <u>mit</u> ++ MF (5/5)	+ / ++ PeE (5/5)
Alte Multipara	n=7	+++ PanE (6/7) + PanEF (1/7)	++ / +++ destr. PanF (7/7)	++ / +++ destr. IEF (7/7) <u>mit</u> ++ destr. MF (5/7)	++ / +++ destr. IEF (7/7) <u>mit</u> ++ destr. PanF (6/7)	+ / ++ PeE (6/7) o.b.B. (1/7)

Legende: PeE = Perielastose

PanE = Panelastose

PanEF = Panelastofibrose

IEF = Intimaelastofibrose

destr. = destruierend

o.b.B. = ohne besonderen Befund

PanF = Panfibrose

MF = Mediafibrose

IF = Intimafibrose

A. = Arterie

+ = geringgradig

++ = mittelgradig

+++ = hochgradig

mittelgr. = mittelgroß

#### 4.4.5 Histopathologische Befunde extraovarieller/extrauteriner Gefäße (Gruppe II)

Die extraovariellen und extrauterinen Gefäße zeigen bei allen Stuten der Gruppe II qualitativ ähnliche Veränderungen und werden demzufolge als eine Untersuchungseinheit zusammengefasst. Es ist allerdings festzustellen, dass die extraovariellen Gefäße geringfügig (d.h. um zirka ½ GSI-Grad) stärker alteriert sind als die extrauterinen Gefäße (Abb. 4.11 und 4.12 auf S. 67). Insbesondere in Abhängigkeit vom Alter und der Parität sind Unterschiede im Ausprägungsgrad der Alterationen nachweisbar.

Die arteriellen Gefäße der **nulliparen Stuten** (n=13) zeichnen sich hauptsächlich durch degenerative Veränderungen im Bereich der Intima (angedeutete bis geringgradige Intimafibrose) aus (n=9). Bei einigen dieser Stuten (n=8) ist zusätzlich noch eine angedeutete bis geringgradige Mediafibrose nachweisbar (Tab. 4.8 auf S. 58). Ein altersabhängiger Unterschied zwischen jungen und älteren Stuten, bezüglich der Qualität und den Grad der Veränderungen, ist nicht festzustellen. Die venösen Gefäße (V. ovarica und V. uterina) erscheinen hauptsächlich (n=6) unverändert (Tab. 4.8 auf S. 58).

Im Gegensatz dazu zeigen die **primiparen Stuten** (n=16) im Bereich der extraovariellen und extrauterinen Arterien deutliche Gefäßveränderungen, die sich in Form einer gering- bis mittelgradigen Panfibroelastose (n=8) bzw. Panfibrose (n=8) manifestieren, wobei die letzteren bevorzugt bei den älteren Stuten nachweisbar sind (Tab. 4.8). Die arteriellen Gefäße einiger Stuten weisen zusätzlich noch eine hyperplastische Intima auf. Im Bereich von V. ovarica und V. uterina sind im Wesentlichen keine degenerativen Gefäßveränderungen festzustellen (n=7). Lediglich bei vier der untersuchten primiparen Stuten sind geringgradige Panfibrosen zu erkennen. Bei den übrigen 5 Stuten haben die venösen Gefäße für eine histopathologische Beurteilung aus präparatorischen Gründen nicht zur Verfügung gestanden. Bei den **multiparen Stuten** (n=12) sind ebenso, wie bei den primiparen Stuten, deutliche, die gesamte Gefäßwand betreffende, teils hyperplastische Alterationen zu erkennen. Die Arterien dieser Stuten sind hauptsächlich durch Panfibroelastosen (n=8) und nur vereinzelt durch Panfibrosen (n=3) gekennzeichnet, wobei jedoch, in Abhängigkeit vom Alter, graduelle Variationen nachzuweisen sind. Während die jungen Stuten (n=4) gering- bis mittelgradige Angiosen zeigen, sind die älteren Stuten ( $\geq 15$  Jahre) durch mittel- bis hochgradige, teils destruierende Alterationen (n=7) gekennzeichnet (Tab. 4.8). Im Bereich des venösen Systems (V. ovarica und V. uterina) stehen nur von fünf der untersuchten multiparen Stuten Gefäßproben zur histopathologischen Untersuchung zur Verfügung. In 2 Fällen ist eine gering- bis mittelgradige Mediafibrose sowie in 3 Fällen eine geringgradige Panfibrose nachweisbar (Tab. 4.8).

Tab. 4.8: Übersicht über die degenerativen Gefäßveränderungen im Bereich der extra-ovariellen und extrauterinen Gefäße der Untersuchungsgruppe II

Gruppe	Anzahl	Extraovarielle Gefäße		Extrauterine Gefäße	
		A. ovarica	V. ovarica	A. uterina	V. uterina
Junge Nullipara	n=11	+ IF (7/11) <u>mit</u> + MF (7/11) o.b.B. (4/11)	+++ PanF (1/11) o.b.B. (6/11) n.u. (4/11)	+ IF (9/11) <u>mit</u> + MF (4/11) o.b.B. (1/11) n.u. (1/11)	+ MF (1/11) o.b.B. (4/11) n.u. (6/11)
Alte Nullipara	n=2	+ IF (2/2) <u>mit</u> + MF (1/2)	n.u. (2/2)	+ MF (2/2)	n.u. (2/2)
Junge Primipara	n=7	+++ PanFE (4/7) ++ PanF (3/7)	o.b.B. (2/7) n.u. (5/7)	+++ PanFE (4/7) + PanF (2/7) o.b.B. (1/7)	+ PanF (1/7) o.b.B. (2/7) n.u. (4/7)
Alte Primipara	n=9	+++ PanFE (4/9) +++ Hyp.PanF (2/9) ++++ Hyp.PanF (3/9)	+ PanF (3/9) o.b.B. (5/9) n.u. (1/9)	+++ Hyp.PanFE (3/9) +++ Hyp.PanF (6/9)	+ PanF (3/9) o.b.B. (5/9) n.u. (1/9)
Junge Multipara	n=5	+++ PanFE (4/5) n.u. (1/5)	+ MF (1/5) n.u. (4/5)	+++ PanF (2/5) ++ Hyp.PanFE (2/5) n.u. (1/5)	+ MF (1/5) n.u. (4/5)
Alte Multipara	n=7	++++ destr. PanFE (4/7) ++++ destr. PanF (3/7)	+ PanF (3/7) ++ MF (1/7) n.u. (3/7)	++ destr. Hyp.PanFE (6/7) ++++ destr. PanF (1/7)	+ PanFE (1/7) + PanF (2/7) + MF (1/7) n.u. (3/7)

Legende: s. Tab. 4.7 auf S. 57

Hyp. = mit Intimahyperplasie

n.u. = nicht untersucht

V. = Vena

#### 4.4.6 Histopathologische Befunde uteriner Gefäße (Gruppe II)

Die **nulliparen Stuten** (n=13) der Untersuchungsgruppe II sind, sowohl im Bereich des Endometriums als auch des Myometriums, kaum von vaskulären Alterationen betroffen. Die überwiegende Anzahl der Stuten (n=10) zeigt im Bereich der arteriolären, arteriellen sowie venösen Gefäße, unabhängig von der Gefäßgröße, keine pathologischen Befunde. Lediglich bei einer alten Stute ist eine geringgradige Panelastose der mittelgroßen Arterien des Endometriums sowie bei zwei Stuten eine geringgradige Panelastofibrose der mittelgroßen Venen des Myometriums nachweisbar (Tab. 4.9 auf S. 60).

Die degenerativen Angiopathien der **primiparen Stuten** (n=16) unterscheiden sich im Bereich des Uterus deutlich, vor allem in Abhängigkeit von der Lokalisation (Endometrium bzw. Myometrium) und dem Alter der untersuchten Stuten. Es kann festgestellt werden, dass die endometrialen Gefäße graduell etwas geringer alteriert sind, als solche des Myometriums. Demzufolge sind die arteriellen Gefäße des Endometriums durch geringgradige Veränderungen, in Form von Panelastosen (n=6) und Perielastosen (n=1), betroffen, während die myometrialen Arterien altersabhängig hauptsächlich gering- bis mittelgradige Intimaelfibrosen mit Perielastosen (n=6), Mediafibrosen (n=4) sowie vereinzelt Veränderungen der gesamten Gefäßwand in Form von Panelastosen (n=1) aufweisen (Tab. 4.9 auf S. 60).

Die endometrialen Venen zeigen mittelgradige Panelastosen (n=6) und sind im Vergleich zu den myometrialen, venösen Gefäßen, die durch mittel- bis hochgradige Panelastosen / Panelastofibrosen (n=11) gekennzeichnet sind, ebenfalls etwas geringer alteriert (Tab. 4.9 auf S. 60). Die Arteriolen stellen sich hauptsächlich (n=14) unverändert dar.

Die **multiparen Stuten** (n=12) weisen stark ausgeprägte Angiosen der gesamten Gefäßwand auf. Die endometrialen Arteriolen sind überwiegend durch mittel- bis hochgradige Panelastosen (n=9) sowie Perielastosen (n=2) gekennzeichnet. Lediglich bei einer Stute konnten keine Veränderungen der Arteriolen festgestellt werden. Die Arterien des Endometriums zeigen, unabhängig von ihrer Größe, mittel- bis hochgradige Panelastosen (n=6); zusätzlich sind Pan-elastofibrosen gleichen Grades (n=6) zu erkennen. Qualitativ ähnliche Alterationen können auch im Bereich des venösen Systems des Endometriums nachgewiesen werden (Tab. 4.9 auf S. 60). Die myometrialen Arterien und Venen sind, im Vergleich zu den endometrialen Gefäßen, ähnlich alteriert. Die arteriellen Gefäße des Myometriums sind hauptsächlich durch Panelastofibrosen (n=10) gekennzeichnet, während die venösen Gefäße häufig Panelastosen (n=7) aufweisen (Tab. 4.9 auf S. 60; Abb. 4.13 u. 4.14 auf S. 67). Auffällig ist zudem, dass in beiden Uteruslokalisationen die Gefäßveränderungen bei den älteren Stuten ( $\geq 15$  Jahre) etwas stärker ausgebildet sind.

Tab. 4.9: Endometriale und myometriale Arteriosen und Phlebosen in Abhängigkeit vom Gefäßtyp und dem Alter der Stuten der Untersuchungsgruppe II

		Endometrium		Myometrium	
Gruppe	Anzahl	Arterien	Venen	Arterien	Venen
Junge Nullipara	n = 11	o.b.B. (11/11)	o.b.B. (11/11)	o.b.B. (11/11)	+ PanEF (1/11) o.b.B. (10/11)
Alte Nullipara	n = 2	+ PanE (1/2) o.b.B. (1/2)	o.b.B. (2/2)	o.b.B. (2/2)	+ PanEF (1/2) o.b.B. (1/2)
Junge Primipara	n = 7	+ PanE (3/7) o.b.B. (4/7)	+ PanE (3/7) o.b.B. (4/7)	+ / + + IEF <u>mit</u> + PeE (4/7) + PanE (1/7) o.b.B. (2/7)	++ PanE (5/7) ++ PeE (1/7) o.b.B. (1/7)
Alte Primipara	n = 9	+ PanE (3/9) + PeE (1/9) o.b.B. (5/9)	+ PanE (3/9) o.b.B. (6/9)	+ / + + IEF <u>mit</u> + PeE (2/9) + MF (4/9) o.b.B. (3/9)	++ / + + + PanE (3/9) ++ / + + + PanEF (3/9) o.b.B. (3/9)
Junge Multipara	n = 5	++ PanE (3/5) ++ PanEF (2/5)	+ / + + PeE (2/5) ++ PanEF (2/5) ++ PanE (1/5)	++ PanEF (5/5)	++ PanEF (3/5) ++ PanE (2/5)
Alte Multipara	n = 7	++ / + + + PanE (3/7) ++ / + + + PanEF (4/7)	+ PeE (2/7) ++ PanEF (3/7) ++ PanE (2/7)	++ / + + + PanEF (5/7) ++ / + + + PanE (2/7)	++ / + + + PanEF (1/7) ++ / + + + PanE (5/7) n.u. (1/7)

Legende: siehe Tab. 4.7 auf S. 57

#### 4.5 Histopathologische Untersuchungsergebnisse gravider Stuten der Untersuchungsgruppe III (Pikrosiriusrot-Färbung)

Zur histologischen Untersuchung haben junge bis mittelalte Stuten (n=7) in unterschiedlich fortgeschrittenem Stadium der Trächtigkeit (1./2., 3., 9. und 10. Trächtigkeitsmonat) zur Verfügung gestanden.

##### 4.5.1 Histopathologische Befunde ovarieller Gefäße (Gruppe III)

###### 1./2. Trächtigkeitsmonat (n=2):

Bei zwei 7 und 10 Jahre alten, primiparen Stuten sind in erster Linie die mittelgroßen und großen Arterien, teils auch die kleinen Arterien des Ovars degenerativ verändert. Die erhobenen Gefäßbefunde entsprechen weitgehend denen, die bei den jungen, primiparen, nicht-graviden Stuten der Untersuchungsgruppe II nachgewiesen werden konnten. In einzelnen Arterien ist zusätzlich eine ödematisierte, zum Teil fragmentierte Membrana elastica interna zu beobachten. Im Bereich des arteriolären und venösen Gefäßsystems sind keine Gefäßveränderungen festzustellen.



### 3. Trächtigkeitsmonat (n=2):

Eine 5 Jahre alte, primipare Stute zeigt im Bereich der arteriellen Gefäße ähnliche qualitative Gefäßbefunde, wie sie schon im 1./2. Trächtigkeitsmonat festgestellt werden konnten. Die Fragmentierung und Ödematisierung der MEI ist jedoch im Vergleich deutlicher ausgebildet. In einzelnen mittelgroßen Arterien erscheint die Adventitia zusätzlich ödematisiert. Die Arteriolen und Venen dieser Stute zeigen keine pathologischen Veränderungen.

Die ovariellen Arterien einer 12jährigen, primiparen Stute sind etwas stärker degenerativ alteriert. Sie sind durch mittelgradige Ablagerungen kollagener Fasern in der Intima sowie durch eine geringgradige Hyperplasie und Vakuolisierung der intimalen Zellen gekennzeichnet. Außerdem weist diese ältere Stute ausgeprägtere subendotheliale Ablagerungen saurer Mukopolysaccharide auf. Im Übergangsbereich zur Media kann eine duplizierte, teils fragmentierte und ödematisierte MEI festgestellt werden. Die Arteriolen und die kleinen, mittelgroßen und großen Venen stellen sich auch bei dieser Stute als unverändert dar.

### 9./10. Trächtigkeitsmonat (n=3):

Die ovariellen Arterien der 8 und 12 (9. Trächtigkeitsmonat) sowie 15 Jahre (10. Trächtigkeitsmonat) alten, primiparen Stuten sind gleichermaßen durch mittelgradige Intima-elastofibrosen mit einer Hyperplasie und Vakuolisierung der intimalen Zellen sowie durch deutliche Akkumulationen saurer Mukopolysaccharide gekennzeichnet. Die MEI weist eine ausgeprägte Fragmentierung und zum Teil auch eine Duplikatur auf. Zusätzlich ist im Bereich der Media ein Verlust kollagener und elastischer Fasern zu verzeichnen (Kollagenolyse/Elastolyse). Wie zum Teil schon bei den Stuten im 3. Trächtigkeitsmonat beobachtet, ist eine deutliche Ödematisierung der Adventitia festzustellen (Abb. 4.9 und 4.10 auf S. 67).

Die Arteriolen weisen in diesem Trächtigkeitsstadium vereinzelt mittelgradige Panelastosen auf. Die ovariellen Venen sind ebenfalls durch Akkumulationen elastischer Fasern gekennzeichnet. Insbesondere im Bereich der mittelgroßen Venen können gering- bis mittelgradige Perielastosen festgestellt werden.

#### **4.5.2 Histopathologische Befunde extraovarieller und extrauteriner sowie uteriner Gefäße (Gruppe III)**

Die histopathologischen Befunde im Bereich der extraovariellen und extrauterinen sowie der uterinen Gefäße der graviden Stuten der Untersuchungsgruppe III sind der Tabelle 4.10 auf S. 62 zu entnehmen.

Tab. 4.10: Extraovarielle und extrauterine sowie uterine Gefäßbefunde der graviden Stuten der Untersuchungsgruppe III

Gruppe	Anzahl	Extraovarielle Gefäße		Extrauterine Gefäße		Myometrium		Endometrium	
		arteriell	venös	arteriell	venös	arteriell	venös	arteriell	venös
<b>IIIa</b>	n=2	o.b.B. (1/2) + PanF (1/2)	n.u. (1/2) + PanF (1/2)	o.b.B. (1/2) + PanF (1/2)	n.u. (1/2) + PanF (1/2)	o.b.B. (2/2)	o.b.B. (1/2) + PanE (1/2)	o.b.B. (2/2)	o.b.B. (2/2)
<b>IIIb</b>	n=2	+ /+++ PanF (2/2)	+ PanF (2/2)	+ /+++ PanF (2/2)	n.u. (2/2)	+ PanF (2/2)	+ /+++ PanEF (2/2)	+ PeE (2/2)	+ PeE (2/2)
<b>IIIc</b>	n=3	+ IFE <u>und</u> Koll./Ela. (2/3) n.u. (1/3)	+ PanF (1/3) n.u. (2/3)	+ PanFE <u>und</u> Koll./Ela. (2/3) n.u. (1/3)	+ PanF (1/3) n.u. (2/3)	+ PeE (1/3) o.b.B. (2/3)	+ PeE (1/3) + PanE (1/3) o.b.B. (1/3)	o.b.B. (3/3)	o.b.B. (3/3)

Legende: IIIa = Primipare Stuten (1.-2. Trächtigkeitsmonat)  
 IIIb = Primipare Stuten (3. Trächtigkeitsmonat)  
 IIIc = Primipare Stuten (9.-10. Trächtigkeitsmonat)

o.b.B. = ohne besonderen Befund  
 IFE = Intima-fibroelastose  
 PanF = Panfibrose  
 PanFE = Panfibroelastose

+ = geringgradig  
 ++ = mittelgradig  
 n.u. = nicht untersucht  
 PanEF = Panelastofibrose  
 PanE = Panelastose  
 PeE = Perielastose  
 Koll./Ela. = Kollagenolyse/Elastolyse

#### 4.6 Histopathologische Untersuchungsergebnisse postpartaler Stuten der Untersuchungsgruppe IV (Pikrosiriusrot-Färbung)

Zur histologischen Auswertung postpartal auftretender Angiopathien im Bereich des weiblichen Genitaltraktes der Stute haben insgesamt drei Stuten in unterschiedlichen Stadien der Puerperalphase (1. Tag, 11. Tage und 28. Tage post partum) zur Verfügung gestanden.

##### 4.6.1 Histopathologische Befunde ovarieller Gefäße (Gruppe IV)

###### 1. - 11. Tag post partum:

Die ovariellen Gefäße einer 10 Jahre alten und einer 15jährigen, primiparen Stute können aufgrund ähnlicher histomorphologischer Gefäßbefunde zusammengefasst werden. Die arteriellen Gefäße dieser Stuten sind geprägt durch das Auftreten einer mittelgradigen Intima-fibroelastose, kombiniert mit einer Hyperplasie und Vakuolisierung intimaler Zellen sowie einer deutlichen Ödematisierung, teils auch Fragmentierung der MEI. In einzelnen kleinen und großen Arterien ist im Bereich der Media eine deutliche Elastolyse erkennbar. Die ovariellen Arteriolen sind vereinzelt durch mittelgradige Panelastosen und die venösen Gefäße durch geringgradige Perielastosen gekennzeichnet. Die erhobenen Befunde entsprechen im Wesentlichen denen, wie sie im letzten Stadium der Gravidität

(9./10. Trächtigkeitsmonat) erhoben werden konnten.

#### 28. Tag post partum:

Bei einer 15jährigen, primiparen Stute sind die zuvor beschriebenen, arteriellen Gefäßbefunde der Stuten (1.-11. Tage post partum) nicht zu erkennen. Die Arterien sind zwar durch eine geringgradige Intimafibrose (teils in Verbindung mit einer geringgradigen Mediafibrose) gekennzeichnet, jedoch liegt zu diesem Zeitpunkt post partum keine Fragmentierung der MEI vor. Eine Ödematisierung der Adventitia ist ebenfalls nicht nachweisbar. Die Arteriolen erscheinen bei dieser Stute vollkommen unverändert. Die stromalen Venen zeigen stattdessen in einigen Gefäßanschnitten geringgradige Perielastosen. Die erhobenen arteriellen Gefäßbefunde lassen auf weitgehend abgeschlossene postpartale Rückbildungsprozesse schließen. Der vaskuläre Status praesens der arteriellen Gefäße entspricht in diesem Stadium weitgehend dem einer adulten, zyklierenden (nicht-graviden) Stute der Untersuchungsgruppe II.

#### **4.6.2 Histopathologische Befunde extraovarieller/extrauteriner sowie uteriner Gefäße (Gruppe IV)**

Die extraovariellen und extrauterinen sowie die uterinen Arterien beider Stuten (1.-11. Tag post partum) sind vorwiegend durch vaskuläre Alterationen (Intimafibroelastose; Elastolyse) gekennzeichnet, die schon im Ovar im gleichen Puerperalstadium beobachtet werden konnten. Derartige Gefäßbefunde, insbesondere der Verlust der elastischen Fasern im Bereich der Media (Elastolyse), sind bei einer 28 Tage post partum befindlichen Stute nicht mehr zu erkennen (Tab. 4.11). Venöse Gefäße haben nur bei einzelnen Stuten für eine histopathologische Untersuchung zur Verfügung gestanden.

Tab. 4.11: Extraovarielle und extrauterine sowie uterine Gefäßbefunde der postpartalen Stuten der Untersuchungsgruppe IV

Gruppe	Anzahl	Extraovarielle Gefäße		Extrauterine Gefäße		Myometrium		Endometrium	
		arteriell	venös	arteriell	venös	arteriell	venös	arteriell	venös
<b>IVa</b>	n=2	+ IFE und Koll./Ela. (1/2) n.u. (1/2)	n.u. (2/2)	+ IFE und Koll./Ela. (1/2) n.u. (1/2)	n.u. (2/2)	+ PeE und Elastolyse (2/2)	+ PeE und Elastolyse (2/2)	+ PeE (1/2) o.b.B. (1/2)	+ PeE (1/2) o.b.B. (1/2)
<b>IVb</b>	n=1	+ PanEF (1/1)	n.u. (1/1)	+ PanEF (1/1)	n.u. (1/1)	+ IE und +PeE (1/1)	+ PanE (1/1)	+ PeE (1/1)	+ PanE (1/1)

Legende zur Tabelle 4.11 (s. auch Tab. 4.10):

IVa = Primipare Stuten (1.-11. Tag post partum)

IVb = Primipare Stute (28. Tag post partum)

### Normalstruktur arterieller und venöser Gefäße aus dem Bereich des ovariellen Stromas junger Maidenstuten

**Abb. 4.3: Unveränderte kleine ovarielle Arterie.** Nachweis einer flachen, einschichtigen Endothelzellschicht, einem schmalen Stratum subendotheliale und einer gut ausgebildeten, feinen, undulierend verlaufenden Membrana elastica interna (**MEI**). Media (**M**) mit mehreren konzentrisch geschichteten Myozytenlagen (**lange Pfeile**), durchsetzt mit einem feinen Fasergerüst aus vorwiegend kollagenen Fasern. Die Adventitia (**Ad**) stellt sich als locker angeordnetes fibroelastisches Netzwerk mit zahlreichen Fibrozyten und einzelnen Vasa vasorum (**Pfeilspitze**) dar.

Lichtmikroskopie, Pikrosiriusrot-Färbung, Gerätevergrößerung: 125x  
2,5 Jahre alte, postpubertäre Maidenstute

**Abb. 4.4: Unveränderte kleine ovarielle Vene.** Lumenseitig (**Lu**) ausgekleidet mit einem flachen, einschichtigen Endothel; ein Stratum subendotheliale der Tunica intima ist nicht abgrenzbar; eine Membrana elastica interna fehlt. Der Übergang von der Intima zur dünnwandigen Media (**M**) und zur Adventitia ist fließend.

Lichtmikroskopie, Pikrosiriusrot-Färbung, Gerätevergrößerung: 125x  
21 Monate alte, postpubertäre Maidenstute

**Abb. 4.5: Unveränderte kleine und mittelgroße ovarielle Arterien.** Deutlich ausgeprägte Adventitia (**Ad**), bestehend aus kompakt angeordneten kollagenen Fasern (**Pfeile**).

Lichtmikroskopie, Pikrosiriusrot-Färbung, Gerätevergrößerung: 62,5x  
9 Monate alte, präpubertäre Maidenstute

### Degenerative Gefäßveränderungen aus dem Bereich des ovariellen Stromas adulter, multiparer Stuten

**Abb. 4.6: Ovarielle Arteriolen.** Nachweis hochgradiger fibrinoider Gefäßwandverquellungen (**Pfeile**).

Lichtmikroskopie, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Gerätevergrößerung: 125x  
10 Jahre alte, multipare (nicht-gravide) Stute

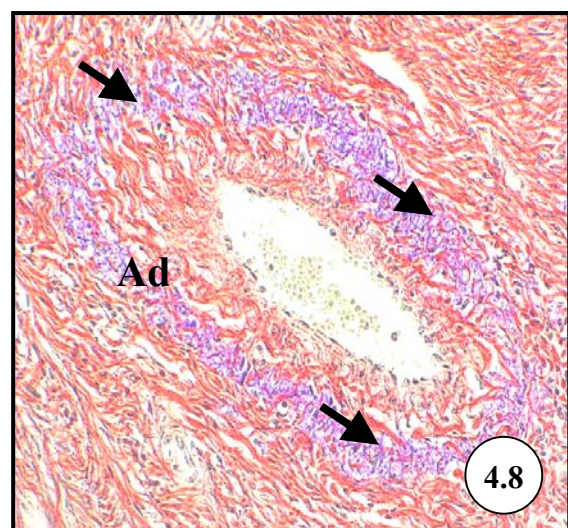
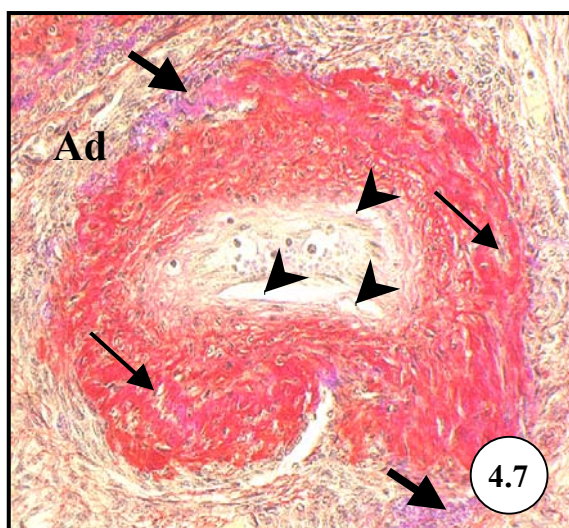
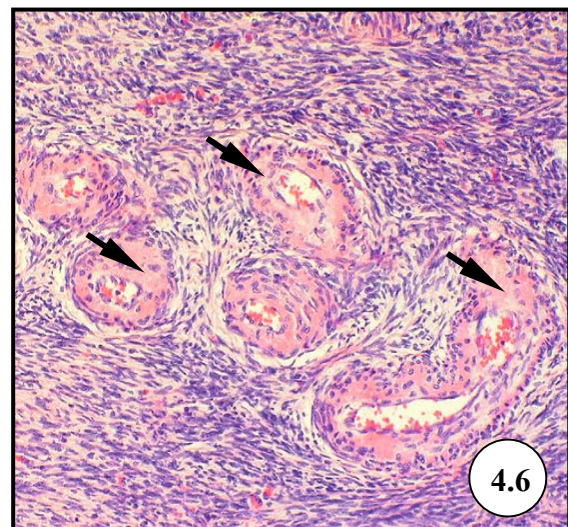
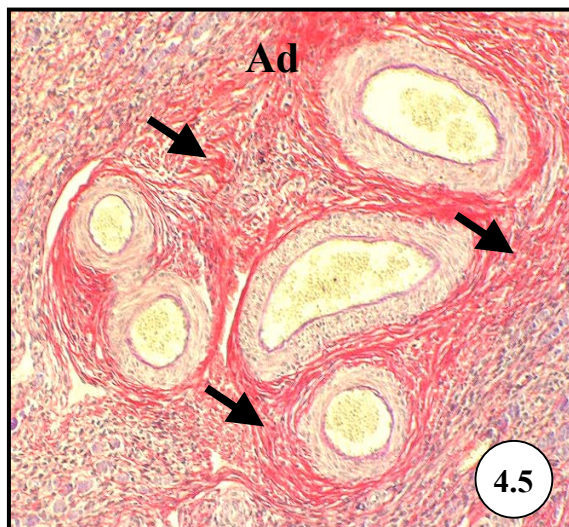
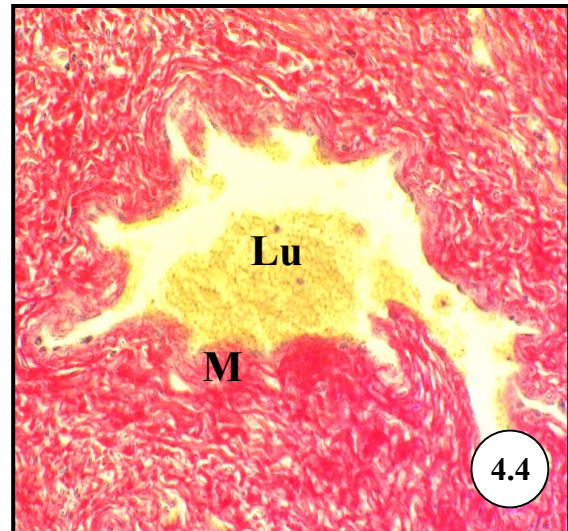
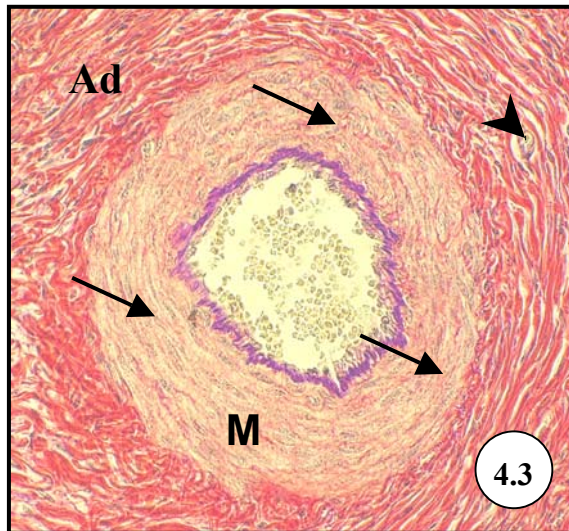
**Abb. 4.7: Ovarielle Arterie mit hochgradiger destruierender Panfibrose.** Vollständige Ablösung des Endothels mit deutlicher subendothelialer Vakuolisierung der Intima (**Pfeilspitzen**). In allen Gefäßschichten: Nachweis von hochgradigen Ablagerungen kollagener Fasern, einhergehend mit einer degenerativen Vakuolisierung zahlreicher Myozyten (**dünne Pfeile**). Im Bereich der Adventitia (**Ad**): segmental geringgradige Ablagerung elastischer Fasern (**dicke Pfeile**).

Lichtmikroskopie, Pikrosiriusrot-Färbung, Gerätevergrößerung: 62,5x  
19 Jahre alte, multipare (nicht-gravide) Stute

**Abb. 4.8: Ovarielle Vene mit geringgradiger Perielastose.** Nachweis von zugebildeten elastischen Fasern (**Pfeile**) innerhalb der Adventitia (**Ad**).

Lichtmikroskopie, Pikrosiriusrot-Färbung, Gerätevergrößerung: 125x  
22 Jahre alte, multipare (nicht-gravide) Stute





### Degenerative Gefäßveränderungen aus dem Bereich des ovariellen Stromas gravider Stuten

**Abb. 4.9: Ovarielle Arterie.** Nachweis einer hochgradig hyperplastischen Intima (**Hyp**) [=Neointima] mit deutlicher intimaler Fibroelastose und Vakuolisierung (**Pfeilspitzen**); segmental duplizierte Membrana elastica (**dünne Pfeile**). Im Bereich der Media (**M**): spärliches Auftreten elastischer und kollagener Fasern mit Vakuolisierung einiger Mediamyozyten (**dicker Pfeil**)

Lichtmikroskopie, Pikrosiriusrot-Färbung, Gerätevergrößerung: 62,5x  
10 Jahre alte, gravide Stute (9. Trächtigkeitsmonat)

**Abb. 4.10: Ovarielle Arterie.** Nachweis eines verengten Lumens (**Lu**) infolge einer hochgradig hyperplastischen Intima mit deutlicher Intimafibrose und intimaler Vakuolisierung; ausgeprägte Fragmentierung und Duplikatur der Membrana elastica interna (**Pfeil**); Media (**M**) mit Nachweis von Elastolyse; Adventitia (**Ad**): ohne besonderen Befund  
Lichtmikroskopie, Pikrosiriusrot-Färbung, Gerätevergrößerung: 62,5x  
10 Jahre alte, gravide Stute (9. Trächtigkeitsmonat)

### Degenerative Gefäßveränderungen aus dem Bereich des Ligamentum latum uteri

**Abb. 4.11: A. ovarica.** Media (**M**) mit deutlicher Ablagerung kollagener Faserstrukturen (**Pfeile**); arealweise vertikal zum Lumen (**Lu**) ausgerichtete Mediamyozyten (**Pfeilspitzen**)  
Lichtmikroskopie, Pikrosiriusrot-Färbung, Gerätevergrößerung: 62,5x,  
16 Jahre alte, nullipare (nicht-gravide) Stute

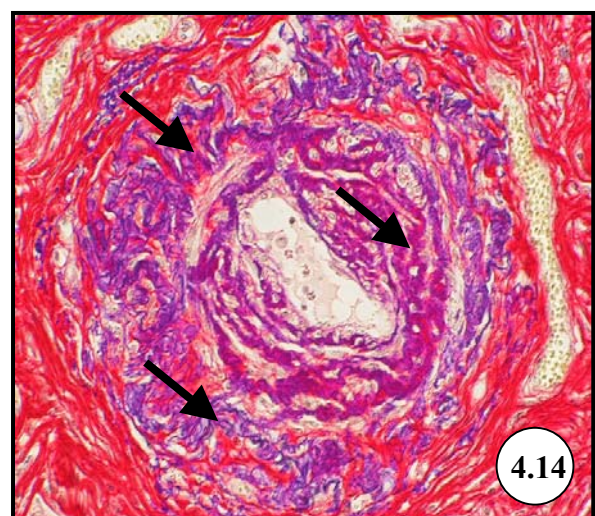
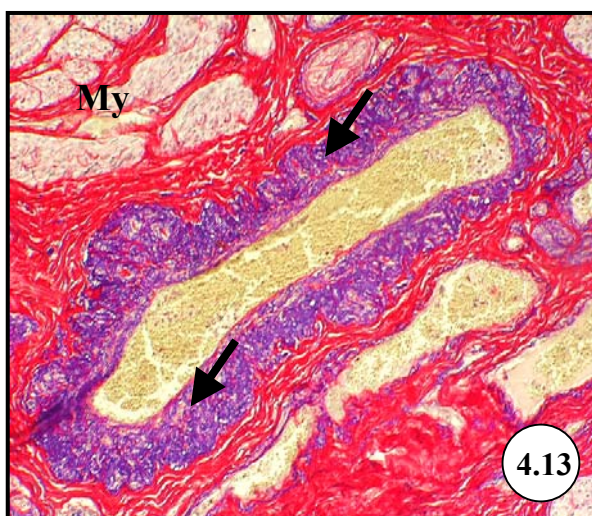
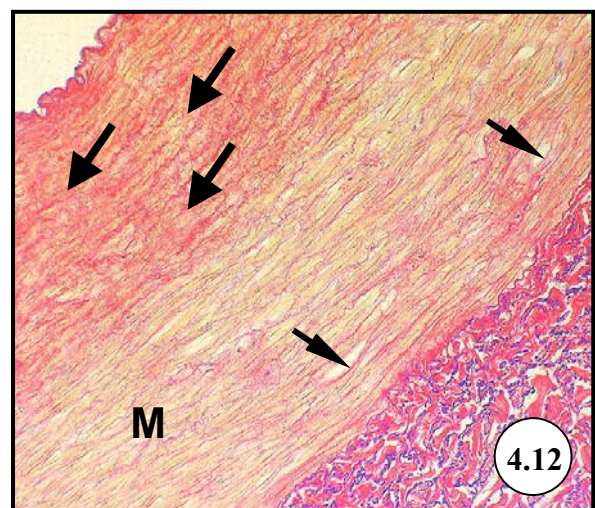
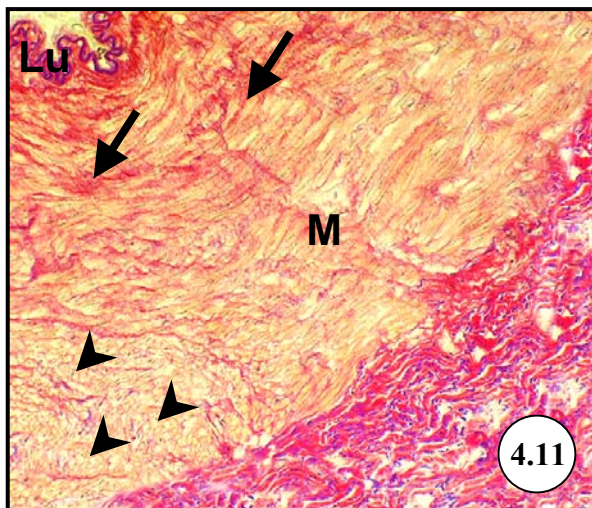
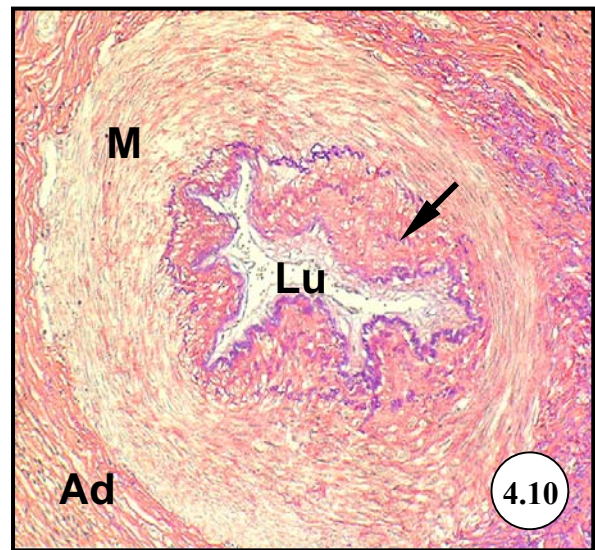
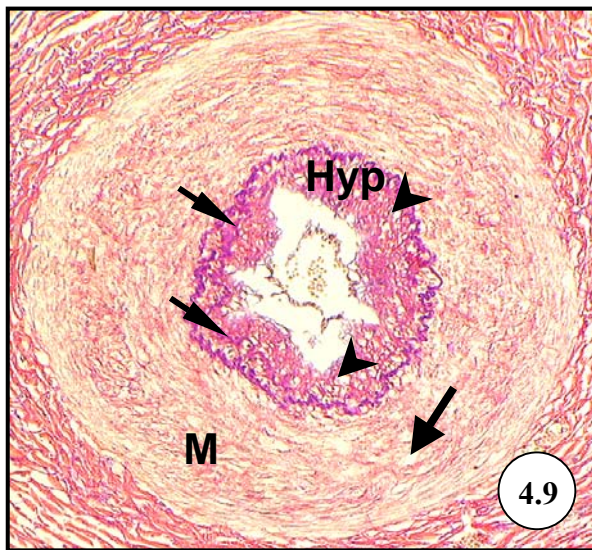
**Abb. 4.12: A. uterina.** Media (**M**) mit geringfügig - hauptsächlich lumennah - ausgeprägter Ablagerung kollagener Fasern (**dicke Pfeile**), regulär konzentrisch gerichtete Mediamyozyten, vereinzelt Vakuolisierung der Myozyten (**dünne Pfeile**)  
Lichtmikroskopie, Pikrosiriusrot-Färbung, Gerätevergrößerung: 62,5x  
16 Jahre alte, nullipare (nicht-gravide) Stute

### Degenerative Gefäßveränderungen uteriner Arterien und Venen

**Abb. 4.13: Myometriale (My) Vene mit hochgradiger destruierender Panelastose.** Sehr deutliche Ablagerung vorwiegend elastischer Fasern (**Pfeile**) innerhalb der gesamten Gefäßwand unter Destruktion gefäßspezifischer Strukturen.  
Lichtmikroskopie, Pikrosiriusrot-Färbung, Gerätevergrößerung: 62,5x  
19 Jahre alte, multipare (nicht-gravide) Stute

**Abb. 4.14: Myometriale Arterie mit hochgradiger destruierender Panelastofibrose.** Sehr deutliche Ablagerung elastischer und kollagener Fasern (**Pfeile**) innerhalb der gesamten Gefäßwand unter Destruktion gefäßspezifischer Strukturen.  
Lichtmikroskopie, Pikrosiriusrot-Färbung, Gerätevergrößerung: 125x  
19 Jahre alte, multipare (nicht-gravide) Stute





**Abb. 4.15: Schematische Darstellung der ovariellen, stromalen Angiopathien in Abhängigkeit vom Alter und der Parität**

**A Ovarielle Arterie einer jungen, nulliparen Stute:**

Nachweis eines flachen Endothelzellverbundes (orange); einer feinen, kontinuierlichen, undulierend verlaufenden Membrana elastica interna und externa (blau); Media mit mehreren zirkulär verlaufenden Myozytenlagen (rot), die von wenigen kollagenen (grün) und elastischen (rosa-violett) Fasern durchsetzt sind; die Adventitia weist im Ruhestadium befindliche, spindelförmige Fibrozyten (gelb) sowie kollagene und elastische Faserstrukturen auf.

**B Ovarielle Arterie einer alten, nulliparen Stute:**

Nachweis einer hyperplastischen Intima, bedingt durch eine Infiltration mit aktivierten Bindegewebszellen (gelb) sowie einer vermehrten Ablagerung kollagener Fasern (= Intimafibrose); die Media ebenfalls mit deutlichen Fibrosierungserscheinungen sowie teils zum Lumen ausgerichteten Mediamyozyten (= Mediadysplasie). Die Membrana elastica interna und externa stellen sich verdickt, fragmentiert und aufgefasert dar. Die Adventitia zeigt synthetisch-aktive Bindegewebszellen (gelb) sowie vermehrt kollagene und elastische Fasern.

**C Ovarielle Arterie einer jungen, multiparen Stute:**

Deutliche subendotheliale Ablagerungen elastischer Fasern (Intimaelastose) mit einzelnen aktivierten Bindegewebszellen. Im Bereich der Media, Nachweis einer beginnenden, lumennahen Mediafibrose. Die Membrana elastica interna stellt sich segmental stark verbreitert, fragmentiert und aufgefasert dar, während die äußere elastische Membran unverändert erscheint. Adventitia mit spindelförmigen, ruhenden Bindegewebszellen (= Fibrozyten), eingebettet in ein feines fibroelastisches Netzwerk.

**D Ovarielle Arterie einer alten, multiparen Stute:**

Nachweis einer stark ausgebildeten, hyperplastischen Intima mit deutlicher Infiltration von aktivierten Bindegewebszellen sowie einer deutlichen Ablagerung elastischer Fasern (= Intimaelastose); Nachweis einer deutlich fragmentierten, teils aufgefaserten Membrana elastica interna und externa; Media mit starker Fibrosierung und vertikal zum Lumen ausgerichteten Myozyten (= Mediadysplasie), die vereinzelt durch die fragmentierte Membrana elastica interna in die hyperplastische Intima übertreten; die Adventitia weist zahlreiche aktivierte, synthetisch-aktive Bindegewebszellen auf.



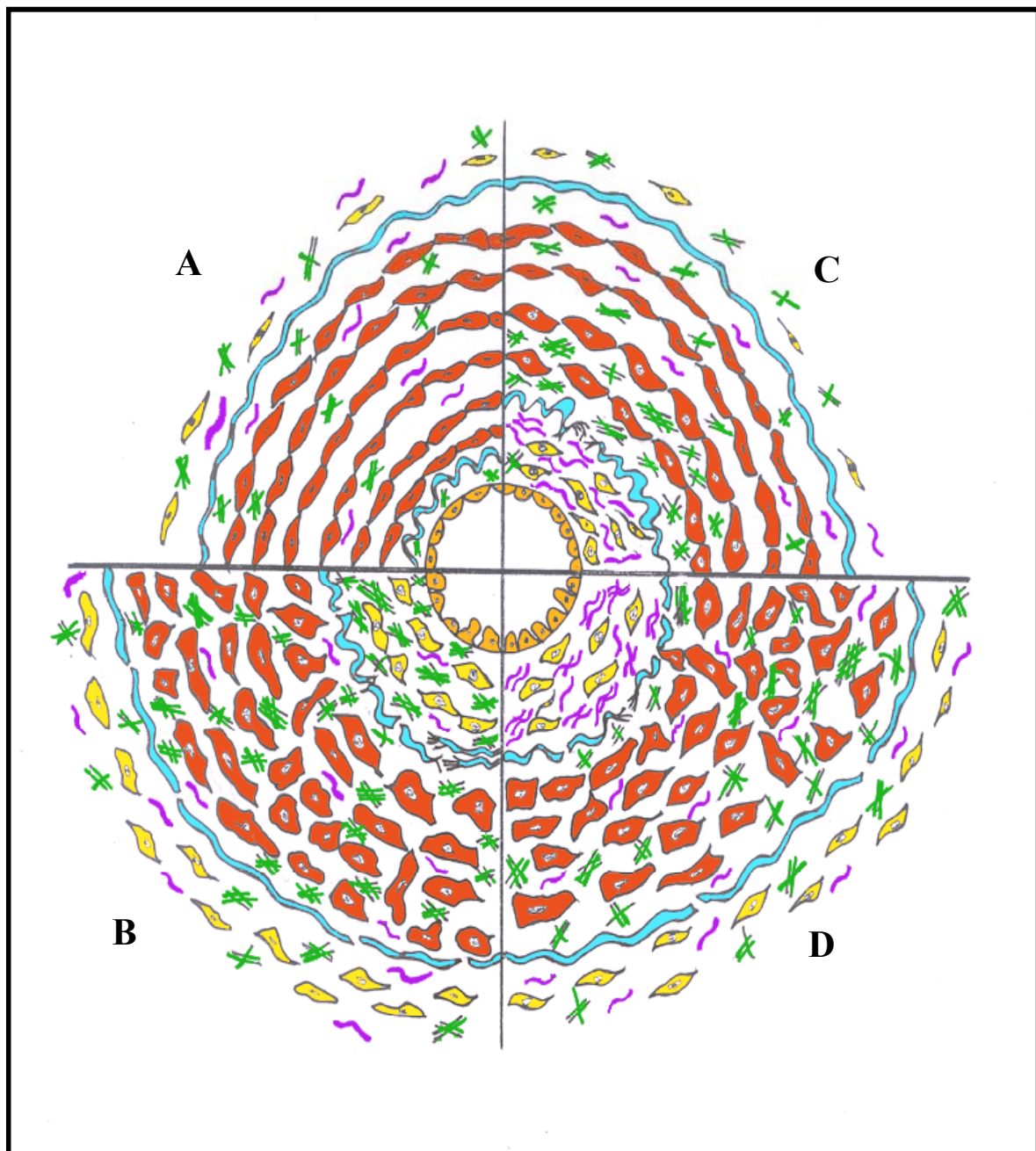


Abb. 4.15: Schematische Darstellung verschiedener Formen ovarieller, stromaler degenerativer Angiopathien im Bereich des arteriellen Gefäßsystems in Abhängigkeit vom Alter und der Parität

#### 4.7 Vorkommen stromaler Angiopathien im Ovar in Beziehung zu den Funktionskörpern der Follikel- und der Gelbkörperphase

Die histopathologische Auswertung der stromalen ovariellen Angiopathien zeigt, dass Gefäßveränderungen bevorzugt in der Nähe bestimmter ovarieller Funktionskörper der Follikel- oder Lutealphase nachzuweisen sind. Es kann festgestellt werden, dass arterioläre Gefäßveränderungen (Arteriolosen), in Form von Panelastosen / Panelastofibrosen, sehr häufig in der Umgebung alter, vernarbter Funktionskörper (Corpus albicans) (n=9) sowie in der Nähe atretischer Follikel (Atresiestadium III) (n=10) auftreten (Tab. 4.12, grau unterlegt). Das rechte sowie das linke Ovar sind gleichermaßen von den degenerativen Gefäßveränderungen betroffen, d.h. eine unilaterale Dominanz der arteriolen Alterationen ist nicht zu erkennen.

Die ebenfalls sehr deutlich ausgebildeten arteriellen Gefäßalterationen (Arteriosen) sowie die venösen Veränderungen (Phlebosen) des ovariellen Stromas können in keinen Zusammenhang mit dem Auftreten eines bestimmten ovariellen Funktionskörpers gebracht werden.

Tab. 4.12: Nachweis ovarieller Arteriolosen im Bereich verschiedener Funktionskörper der Follikel- und Gelbkörperphase des rechten und linken Ovars (Gruppen I-IV)

Funktionskörper		Follikelstadium					Gelbkörperstadium			
		Lutein. Foll.	Tertiär-foll.	Foll. Atresie I	Foll. Atresie II	Foll. Atresie III	C.h.	C.l. (Blüte)	C.l. (Regress)	C.alb.
Lok.	re.	n=0	n=4	n=2	n=2	n=5	n=0	n=3	n=0	n=3
	li.	n=0	n=1	n=0	n=3	n=5	n=0	n=2	n=2	n=6
Anzahl		n=0	n=5	n=2	n=5	<b>n=10</b>	n=0	n=5	n=2	<b>n=9</b>

Legende: Foll. = Follikel  
C.alb. = Corpus albicans  
re. = rechts

C.h. = Corpus haemorrhagicum  
Lok. = Lokalisation  
li. = links

C.l. = Corpus luteum  
Regress = Regression

#### 4.8 Semiquantitative Auswertung mit Hilfe des Gefäßschädigungsindex

Zur Quantifizierung der Ergebnisse sowie zur vergleichenden Darstellung der Gefäßbefunde aus den verschiedenen Lokalisationen des weiblichen Genitaltraktes ist eine semiquantitative Auswertung der arteriellen Angiopathien der adulten, nicht-graviden Stuten (Untersuchungsgruppe II) mit Hilfe des Gefäßschädigungsindex (GSI) vorgenommen worden.

Es kann festgestellt werden, dass die ovariellen Gefäße der nicht-graviden Stuten durch vaskuläre Alterationen gekennzeichnet sind, die sich mit zunehmendem Alter deutlicher

manifestieren. Die extraovariellen (A. ovarica dextra und sinistra) und extrauterinen Gefäße (A. uterina dextra und sinistra) zeigen dagegen sowohl alters- als auch graviditätsassoziierte Umbauprozesse, wobei die extraovariellen Gefäße geringfügig stärker alteriert sind. Die uterinen Gefäße weisen dagegen Veränderungen auf, die primär mit der Parität assoziiert sind (s. Abb. 4.16).

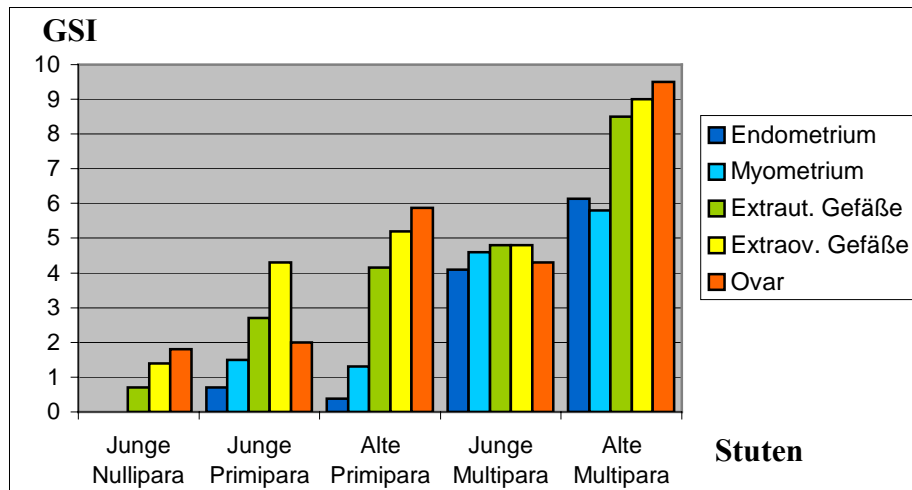


Abb. 4.16: Vergleich des Gefäßschädigungsindex (GSI) von endometrialen, myometrialen, extrauterinen, extraovariellen und ovariellen Arterien bei Stuten unterschiedlichen Alters und verschiedener Parität der Untersuchungsgruppe II

Hinsichtlich der Qualität der Gefäßveränderungen zeichnen sich die uterinen Gefäße, sowohl im Bereich des Endometriums als auch des Myometriums, in Abhängigkeit von der Parität, durch ein graduell variables Auftreten von vaskulären Elastosen (Panelastosen und Panelastofibrosen) aus (Tab. 4.9 auf S. 60). Extraovarielle und extrauterine Gefäße sind durch ähnliche Gefäßalterationen in Form von Panfibroelastosen (Tab. 4.8 auf S. 58) gekennzeichnet, während ovarielle Gefäße hauptsächlich durch Ablagerungen kollagener Fasern (Fibrosen) im Bereich der Intima und der Media charakterisiert sind. Diese Ergebnisse zeigen, dass ausgehend vom Uterus über die extrauterinen und extraovariellen Gefäße zum Ovar eine kontinuierliche Zunahme des Schweregrades der fibrosierenden Gefäßveränderungen zu verzeichnen ist, wobei letztere primär altersassoziiert auftreten.

## 4.9 Immunhistologische Untersuchungsergebnisse

### 4.9.1 Ovariellles Stroma

Das ovarielle Stroma läßt sich bei den juvenilen, präpubertären Stuten, im Vergleich zu den adulten, postpubertären Stuten, wie bereits im Kap. 4.2.2.2 auf S. 46 erwähnt, in eine

Rindenzone und einen Markbereich unterteilen. Diese histomorphologische Differenzierung kann auch immunhistologisch nachvollzogen werden. Sowohl im Bereich der Medulla ovarii (Zona vasculosa) als auch des Cortex ovarii (Zona parenchymatosa) der präpubertären Stuten (n=2) kann bei nahezu 100 % der Zellen eine Vimentin-/α-Aktin-Koexpression nachgewiesen werden. Zusätzlich ist noch Laminin sowohl kortikal als auch medullär extrazellulär zu erkennen (Tab. 4.13).

Kollagen-Typ III kann in beiden ovariellen Lokalisationen diffus in den extrazellulär gelegenen Faserstrukturen nachgewiesen werden, wobei jedoch die Expression im medullären Bereich etwas stärker ausgebildet ist.

Tab. 4.13: Expressionsmuster immunhistologischer Marker im Bereich des ovariellen Stromas

Antikörper	Ovariellles Stroma		
	Präpubertäre Stuten		Postpubertäre Stuten
	Zona parenchymatosa	Zona vasculosa	Zona parenchymatosa
<b>Vimentin</b>	+++	+++	+++
<b>Desmin</b>	--	--	--
<b>α-Aktin</b>	+++	+++	+++
<b>Kollagen-Typ III</b>	++	+	++
<b>Elastin</b>	+	--	(+)
<b>Laminin</b>	+++	+++	+++

Legende: (+) = ≤ 10 % positive zelluläre / extrazelluläre Expression  
 + = 10-25 % positive zelluläre / extrazelluläre Expression  
 +(+) = 25-50 % positive zelluläre / extrazelluläre Expression  
 ++ = 50-75 % positive zelluläre / extrazelluläre Expression  
 ++(+) = 75-95 % positive zelluläre / extrazelluläre Expression  
 +++ = 95-100 % positive zelluläre / extrazelluläre Expression

Bei den postpubertären Stuten ist histologisch im Bereich des ovariellen Stromas keine Differenzierung in eine medulläre und kortikale Zone mehr möglich. Das immunhistologische Expressionsmuster entspricht dem Rindenbereich (Zona parenchymatosa) präpubertärer Stuten (Tab. 4.13).

Neben den aufgeführten immunhistologischen Markern ist außerdem noch eine Untersuchung auf Lysozym durchgeführt worden, um zu eruieren, inwieweit die pigmententhaltenden Zellen des Ovars postpubertärer Stuten phagozytierende Makrophagen sind. (s. Kap. 4.2.2.2.1 auf S. 47). Dabei konnte bei zwei Stuten festgestellt werden, dass es sich bei den pigmenthaltigen Zellen in erster Linie um Stromazellen sowie im Bereich alter Funktionskörper (Corpora albicantia) vorwiegend um Makrophagen (Lysozym: positiv) handelt.

## 4.9.2 Ovarielle Gefäße

### 4.9.2.1 Immunhistologische Expression von Vimentin, Desmin und $\alpha$ -Aktin

Die immunhistologische Auswertung beschränkt sich auf die arteriellen, stromalen Gefäße des Ovars, da diese in erster Linie von den degenerativen Gefäßumbauprozessen betroffen sind.

#### Kontrollgruppe:

Als immunhistologische Kontrollgruppe dienen juvenile, präpubertäre Stuten der Untersuchungsgruppe I (n=2) sowie adulte, postpubertäre Stuten (junge Nullipara) der Untersuchungsgruppe II (n=2). Die arteriellen Gefäße dieser Stuten sind durch eine deutliche, diffuse intrazytoplasmatische Vimentin-Expression der Endothelzellen, der Mediamyozyten sowie einzelner Fibroblasten, Muskel- und Nervenfaserschnitte (Adventitia) gekennzeichnet. Die Myozyten zeichnen sich darüber hinaus durch eine starke intrazytoplasmatische Koexpression von Desmin und  $\alpha$ -Aktin aus (Tab. 4.15 auf S. 74; Abb. 4.17 auf S. 77).

#### Untersuchungsgruppe II:

Die arteriellen Gefäße der adulten, zyklisierenden Stuten der Untersuchungsgruppe II (n=10) zeigen mit zunehmendem Alter (Tab. 4.14, grau unterlegt), jedoch auch mit steigender Anzahl an Abfohlungen, im stark verbreiterten Stratum subendotheliale (= Intimahyperplasie) einen Nachweis Vimentin- und  $\alpha$ -Aktin koexprimierender Zellen von nahezu 100 % (Tab. 4.15 auf S. 74, grau unterlegt). Die Zellen zeigen intrazytoplasmatisch jedoch keine Desmin-expression. Im Bereich der Adventitia ist ebenfalls eine deutliche Zunahme (nahezu 100 %) dieses Zelltyps mit dem gleichen immunhistologischen Expressionsmuster (Myofibroblasten vom  $V^+A^+D^-$ -Typ) zu beobachten (Tab. 4.15 auf S. 74, grau unterlegt; Abb. 4.18 auf S. 77).

Tab. 4.14: Immunhistologische Befunde ausgewählter Antikörper im Bereich ovarieller, stromaler Arterien in Abhängigkeit vom Alter und der Parität (Gruppe II)

	Gefäß- schicht	Nullipara		Primipara		Multipara	
		Jung	Alt	Jung	Alt	Jung	Alt
<b>Vimentin</b>	<b>I</b>	(+) Hyp.	+++ Hyp.	++(+) Hyp.	+++ Hyp.	++(+) Hyp.	+++ Hyp.
	<b>M</b>	+++	+++	+++	++(+)	+++	+++
	<b>A</b>	+	+++	++	+++	++	+++
<b>Desmin</b>	<b>I</b>	(+)/--	--	--	--	--	--
	<b>M</b>	+++	++	+++	++	++	++
	<b>A</b>	--	--	--	--	--	--
<b><math>\alpha</math>-Aktin</b>	<b>I</b>	--	+++ Hyp.	++(+) Hyp.	+++ Hyp.	++(+) Hyp.	+++ Hyp.
	<b>M</b>	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	<b>A</b>	--	+++	+	+++	++	+++

Legende: s. auch Tab. 4.13 auf S. 72

I = Intima  
A = Adventitia

M = Media  
Hyp = Hyperplasie

Innerhalb der Tunica media fällt auf, dass die Mediamyozyten, ebenfalls in Abhängigkeit vom Alter und von der Parität, durch einen relativen Anstieg Vimentin-exprimierender Zellen bei gleichzeitiger Abnahme Desmin-exprimierender Zellen gekennzeichnet sind. (Tab. 4.15).

#### Untersuchungsgruppen III und IV:

Die ovariellen Arterien der graviden (n=3) und postpartalen Stuten (n=2) der Untersuchungsgruppe III und IV sind, im Bereich der Intima und der Adventitia, durch ähnliche immunhistologische Befunde (Nachweis zahlreicher Myofibroblasten vom V<sup>+</sup>A<sup>+</sup>D<sup>-</sup>-Typ) charakterisiert, die bereits bei Stuten der Untersuchungsgruppe II in diesen Gefäßschichten erhoben werden konnten (Abb. 4.20 auf S. 77).

Tab. 4.15: Immunhistologisches Befunde ausgewählter Antikörper im Bereich ovarieller, stromaler Arterien in Abhängigkeit vom Alter und der Parität (Gruppen II-IV inkl. immunhistologischer Kontrollgruppe)

Anti-körper	Gefäß-schicht	Kontroll-gruppe	Stutengruppe II (adult, zyklierend)		Stutengruppe III (gravid)		Stutengruppe IV (post partum)	
		Jung	Jung	Alt	1. TM	9. TM	11 d pp	28 d pp
Vimen-tin	I	--	(+)	+++ Hyp.	++ Hyp.	+++ Hyp.	+++ Hyp.	++ Hyp.
	M	+++	+++	+++	++(+)	++	+(+)	++
	A	++	++	+++	++	+++	+++	++(+)
Desmin	I	--	(+)/--	--	--	+ Hyp.	(+)/-- Hyp.	--
	M	+++	+++	++	++	+++	+++	+(+)
	A	--	--	--	--	+	(+)/--	--
$\alpha$ -Aktin	I	--	--	+++ Hyp.	++ Hyp.	+++ Hyp.	+++ Hyp.	++ Hyp.
	M	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	A	--	--	+++	++(+)	+++	+++	++(+)
Elastin	I	+++ (MEI)	+++ (MEI)	++/-- Hyp.	+ Hyp.	++ Hyp.	+ Hyp.	++ Hyp.
	M	(+)/+	(+)/+	+	+	(+)/--	--	(+)
	A	(+)	--	(+)	(+)	+(+)	+	+(+)
Kollag-en III	I	--	+	++(+)	+ Hyp.	++ Hyp.	++(+)	++(+)
	M	(+)	(+)	++	(+)	(+)/--	--	+
	A	++	++	++	++	++	++	+(+)
Lami-nin	I	--	--	+++ Hyp.	+++ Hyp.	+++ Hyp.	+++ Hyp.	++ Hyp.
	M	+++	+++	++	++(+)	+++	+++	+++
	A	+++	++	++(+)	++	++(+)	++(+)	+(+)

Legende zur Tab. 4.15: siehe auch Tab. 4.13 auf S. 72

d = Tag

TM = Trächtigkeitsmonat

MEI = Membrana elastica interna

Hyp. = Hyperplasie

#### **4.9.2.2 Immunhistologischer Nachweis von Kollagen-Typ III, Elastin und Laminin**

##### Kontrollgruppe

Die Arterien der Kontrollgruppe (n=4) zeigen eine intensive, kontinuierliche Elastinexpression im Bereich der MEI, die sich als feine, undulierend verlaufende Lamelle darstellt (Tab. 4.15). Elastin kann weiterhin noch im Bereich einzelner, zarter Faserstrukturen der Media und Adventitia nachgewiesen werden. Kollagen-Typ III ist ebenfalls nur geringfügig in mittel-

großen und großen Arterien sowie in einzelnen kleinen Arterien innerhalb der Media zu beobachten, während die Adventitia wesentlich mehr Kollagen-Typ III-positive Fasern aufweist (Tab. 4.15 auf S. 74). Eine starker extrazellulärer Laminin-Nachweis ist im Bereich der luminalen (subendothelialen) Basalmembran (BM), der Basalmembran der Mediamyozyten sowie der BM der Vasa vasorum und der Muskel- und Nervenanschnitte im Bereich der Adventitia zu erkennen.

#### Untersuchungsgruppe II:

Die ovariellen Arterien dieser Stuten zeigen, unabhängig von der Gefäßgröße, primär altersassoziiert, jedoch auch in Abhängigkeit von der Anzahl der Abfohlungen, ein stark vermehrtes Auftreten Laminin-exprimierender Zellen im Bereich der massiv verbreiterten, hyperplastischen Intima sowie der Adventitia (Tab. 4.15 auf S. 74, grau unterlegt). Bei diesen handelt es sich um die bereits beschriebenen, Vimentin und  $\alpha$ -Aktin-exprimierenden Myofibroblasten vom V<sup>+</sup>A<sup>+</sup>D<sup>-</sup>-Typ.

Elastin ist bei diesen Stuten im Bereich der Membrana elastica interna (MEI) nur noch diskontinuierlich nachweisbar. Die MEI stellt sich zunehmend aufgefasert, fragmentiert sowie teilweise dupliziert dar. Elastin ist weiterhin, übereinstimmend mit den Gefäßbefunden in der Pikrosiriusrot-Färbung, innerhalb zugebildeter Fasern der gesamten Gefäßwand arteriöler Gefäße (Panelastosen) sowie der Intima (Intimaelastose) mittelgroßer und großer Arterien, multiparer Stuten nachweisbar.

Mit zunehmendem Alter ist, fortschreitend innerhalb der Media kleiner, mittelgroßer und großer Arterien, ein deutlicher Kollagen-Typ III-Nachweis im Bereich der zugebildeten Faserstrukturen zu beobachten. Die Adventitia ist, neben der Intima und der Media, lediglich im Bereich kleiner Arterien zusätzlich von deutlichen Kollagen-Typ III Faserzubildungen (Panfibrosen) betroffen.

#### Untersuchungsgruppen III und IV:

Der immunhistologische Nachweis von Laminin, Kollagen-Typ III sowie von Elastin innerhalb der Gefäßwand arterieller Gefäße der graviden (n=3) und postpartalen Stuten (n=2), entspricht sowohl im Bereich der Intima als auch der Adventitia den Befunden der Arterien der Stutengruppe II. Innerhalb der Media ist jedoch eine deutliche Abnahme der Kollagen-Typ III und Elastinexpression sichtbar, die auch 11 Tage post partum noch nachgewiesen werden kann (Tab. 4.15 auf S. 74, grau unterlegt). Ein intensiver, jedoch diskontinuierlicher Elastinnachweis im Bereich der MEI ist auch bei diesen beiden Stutengruppen in Form einer fragmentierten, teils duplizierten elastischen Lamelle sichtbar (Abb. 4.19 auf S. 77).

## Immunhistologische Ergebnisse

**Abb. 4.17: Expression von  $\alpha$ -Aktin zum Nachweis glatter Muskelzellen in einer unveränderten ovariellen Arterie.** Schmales Stratum subendotheliale (**Ss**) mit einzelnen  $\alpha$ -Aktin-positiven Zellen (**Pfeile**); Media (**M**) mit regulär konzentrisch verlaufenden Myozyten; im Bereich der Adventitia (**Ad**): Nachweis einzelner glatter Muskelzellen - vor allem im Bereich der Vasa vasorum (**Pfeilspitze**)

Immunhistologie, Nomarski-Interferenz-Kontrast, Gerätevergrößerung: 125x

21 Monate alte, postpubertäre Stute (Kontrollgruppe)

**Abb. 4.18: Expression von Vimentin in einer ovariellen Arterie mit einer mittel- bis hochgradigen Panfibroelastose.** Nachweis stark hyperplastischer, Vimentin-positiver Endothelzellen; deutlich hyperplastische Intima (**Hyp**) mit massenhaft Vimentin-positiven Zellen (**Pfeile**); Media (**M**) mit variabler Breite sowie zahlreichen Vimentin-exprimierenden Mediamyozyten; im Bereich der Adventitia (**Ad**): Nachweis zahlreicher Vimentin-positiver Zellen (**Pfeilspitzen**)

Immunhistologie, Nomarski-Interferenz-Kontrast, Gerätevergrößerung: 125x

19 Jahre alte, multipare (nicht-gravide) Stute

**Abb. 4.19: Expression von Elastin zum Nachweis elastischer Fasern und Membranen in einer ovariellen Arterie.** Hyperplastische Intima mit Nachweis einer deutlich fragmentierten und multiplizierten Membrana elastica interna (**Pfeilspitzen**); im Bereich der Media: Nachweis einzelner, feiner elastischer Fasern (**Pfeil**)

Immunhistologie, Nomarski-Interferenz-Kontrast, Gerätevergrößerung: 125x

12 Jahre alte, gravide Stute (9. Trächtigkeitsmonat)

**Abb. 4.20: Expression von Vimentin in einer ovariellen Arterie.** Nachweis einer hochgradig hyperplastischen Intima (**Hyp**) mit zahlreichen Vimentin-exprimierenden Zellen (**Pfeil**); Media (**M**) und Adventitia (**Ad**) mit zahlreichen Vimentin-positiven Zellen

Immunhistologie, Nomarski-Interferenz-Kontrast, Gerätevergrößerung: 125x

12 Jahre alte, gravide Stute (3. Trächtigkeitsmonat)

**Abb. 4.21: Expression von Desmin in einer A. ovarica mit mittelgradiger Panfibroelastose.** Nachweis einer gering- bis mittelgradig ausgebildeten, hyperplastischen Intima (**Hyp**) mit subendothelial lokalisierten Desmin-positiven Zellen (**Pfeile**); Myozyten der Media (**M**) exprimieren intrazytoplasmatisch deutlich Desmin

Immunhistologie, Nomarski-Interferenz-Kontrast, Gerätevergrößerung: 125x

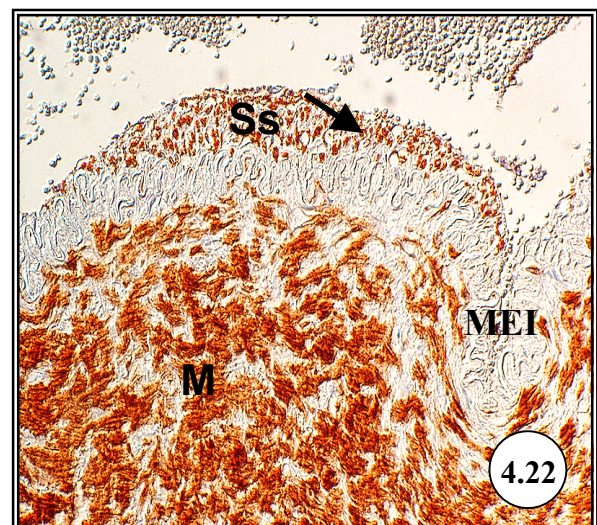
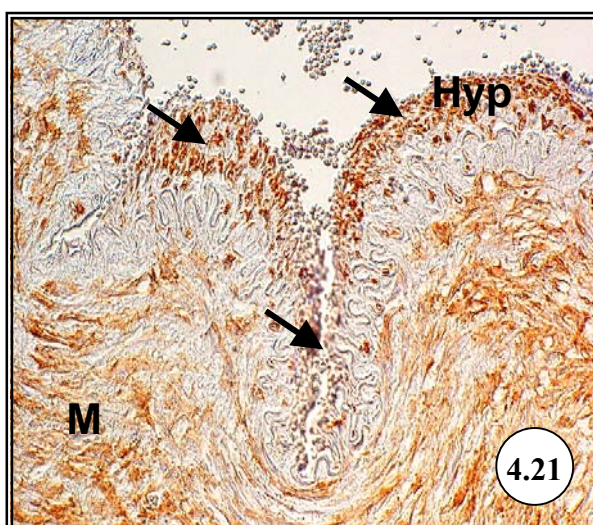
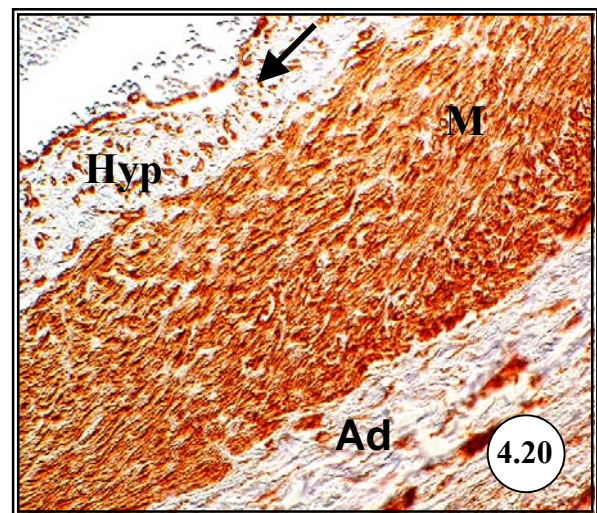
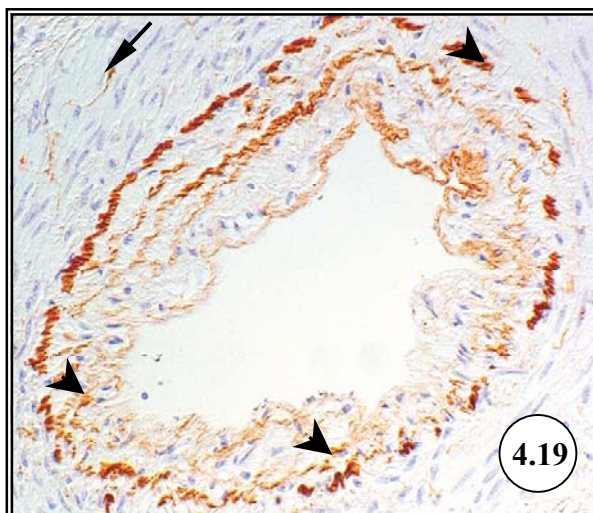
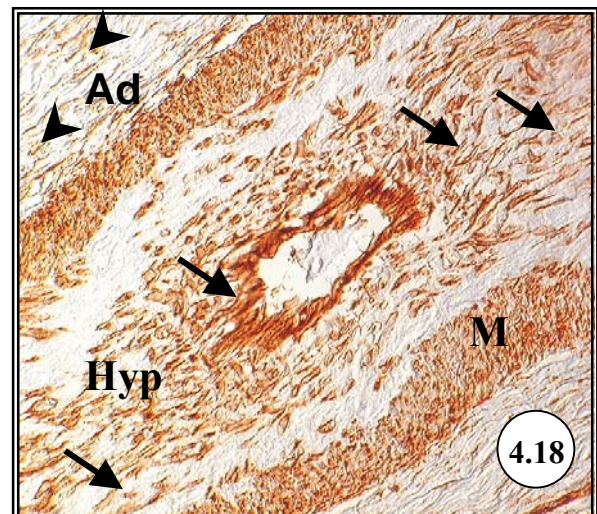
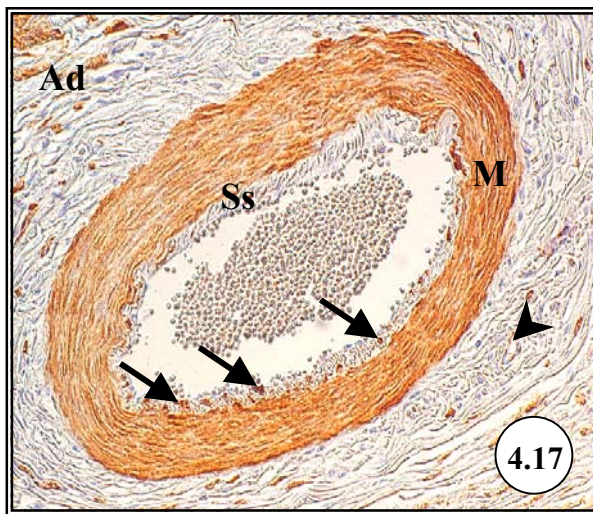
22 Jahre alte, multipare (nicht-gravide) Stute

**Abb. 4.22: Expression von  $\alpha$ -Aktin in einer A. ovarica mit mittelgradiger Panfibroelastose.** Fokale Verbreiterung des Stratum subendotheliale (**Ss**) durch intimal gelegene  $\alpha$ -Aktin-positive Zellen (**Pfeil**); regulär verlaufende Membrana elastica interna (**MEI**); Myozyten der Media (**M**) exprimieren intrazytoplasmatisch deutlich  $\alpha$ -Aktin

Immunhistologie, Nomarski-Interferenz-Kontrast, Gerätevergrößerung: 125x

22 Jahre alte, multipare (nicht-gravide) Stute





### 4.9.3 Extraovarielle und extrauterine Gefäße

#### 4.9.3.1 Immunhistologische Expression von Vimentin, Desmin, $\alpha$ -Aktin, Elastin, Kollagen-Typ III sowie Laminin

##### Kontrollgruppe:

Die extraovariellen und extrauterinen Gefäße (Aa. ovaricae et uterinae dextrae / sinistrae) der Kontrollgruppe zeigen eine nur geringgradig ausgeprägte hyperplastische Intima mit Nachweis einzelner subendothelialer Vimentin-exprimierender Zellen. Die Media läßt eine deutliche intrazytoplasmatische Desmin-Expression der Myozyten erkennen. Innerhalb der Adventitia sind vereinzelt Vimentin-positive Zellen, sowie im Bereich der Vasa vasorum  $\alpha$ -Aktin-exprimierende Zellen, nachweisbar.

##### Untersuchungsgruppen II-IV:

Die A. ovarica und die A. uterina dextra und sinistra der Untersuchungsgruppen II-IV sind, ebenso wie die intraovariellen Gefäße, durch die Ausbildung einer hyperplastischen Intima gekennzeichnet. Diese ist, in gering- bis mittelgradiger Ausprägung, jedoch nicht bei allen Stuten im Bereich der extrauterinen und extraovariellen Arterien ausgebildet. Wie im Ovar, ist die hyperplastische Intima durch das Auftreten von nahezu 100 % Vimentin- und  $\alpha$ -Aktin koexprimierender Zellen gekennzeichnet. Zusätzlich exprimieren 50 % der subendothelial gelegenen Zellen noch intensiv intrazytoplasmatisch Desmin (Abb. 4.21 und 4.22 auf S. 77). Entsprechend ihres immunhistologischen Expressionsmusters, handelt es sich bei diesen subintimalen Zellen hauptsächlich um Myofibroblasten vom  $V^+A^+D^-$ -Typ, bei einigen könnte es sich aber auch um den  $V^+A^+D^+$ -Typ bzw. um ausdifferenzierte Mediamyozyten handeln. Zellen mit dem gleichen immunhistologischen Verhalten sind, wie im Ovar, auch in der Adventitia festzustellen.

Als weiterer Befund ist, übereinstimmend mit den Gefäßbefunden der Pikrosiriusrot-Färbung, im Bereich der Media extraovarieller Gefäße, im Vergleich zu den extrauterinen Gefäßen (Untersuchungsgruppe II), ein geringfügig ( $\frac{1}{2}$  Grad) stärker ausgeprägter Kollagen-Typ III-Gehalt zu erkennen.

In Analogie zu den Ovarbefunden, kann im Bereich der Media extrauteriner und extraovarieller Gefäße der graviden Stuten (Untersuchungsgruppe III) sowie der postpartalen Stuten (Untersuchungsgruppe IV) eine Abnahme des Kollagen-Typ III- und Elastingehaltes nachgewiesen werden.



## **5 Diskussion**

### **5.1 Ziel der Arbeit**

Das Ziel dieser Studie war neben der histomorphologischen Beschreibung und Charakterisierung der ovariellen und extraovariellen Angiopathien bei der Stute, ein qualitativer und quantitativer histologischer Vergleich mit den extrauterinen und uterinen Gefäßalterationen, um mögliche Korrelationen zwischen den verschiedenen Lokalisationen nachweisen zu können. Zu diesem Zweck sind von insgesamt 60 Stuten unterschiedlichen Alters und Parität Gewebeproben aus definierten Lokalisationen (Ovar, extraovarielle/extraterine Gefäße, Uterus) zur weiteren Aufarbeitung und lichtmikroskopischen Auswertung mittels konventioneller Methoden (H.-E.-Färbung) sowie Spezialfärbungen (Pikrosiriusrot-Färbung) entnommen worden. Eine vergleichende semiquantitative Auswertung der Gefäßbefunde aus den verschiedenen Lokalisationen des equinen Genitaltraktes wurde mit Hilfe des Gefäßschädigungsindex (GSI) durchgeführt.

An repräsentativen histologischen Schnitten ausgewählter Stuten sind zusätzlich immunhistologische Marker (Vimentin, Desmin,  $\alpha$ -Aktin, Elastin, Kollagen-Typ III und Laminin), zwecks Charakterisierung der Angiopathien sowie zur Ableitung möglicher morphologisch-funktioneller Zusammenhänge, zur Anwendung gekommen.

### **5.2 Kritische Beurteilung des Untersuchungsmaterials und der Untersuchungsmethoden**

Bei dem Untersuchungsgut handelt es sich ausschließlich um Stuten, die zu diagnostischen Zwecken an das Institut für Veterinär-Pathologie der Universität Leipzig eingesandt worden sind. Als vorberichtliche Angaben lagen das Alter, die Rasse des Tieres sowie klinische Daten zum Krankheitsverlauf vor. Eher sporadisch war der Reproduktionsstatus (Anzahl der Abfohlungen) der jeweiligen Stute bekannt. Um jedoch Informationen über diesen Parameter zu erhalten, ist im Rahmen dieser Studie, in Anlehnung an WREDE (1999), eine histologische Untersuchung der endometrialen Gefäße des Uterus einer jeden Stute vorgenommen worden. Informationen zum Graviditätsstadium eines tragenden Tieres haben in der Regel vorgelegen. In ganz seltenen Fällen ist der Trächtigkeitsmonat anhand der makroskopisch erhobenen Reifekriterien (Gesamtgewicht, Scheitel-Steiß-Länge, Behaarung) des Fötus ermittelt worden (RÜSSE u. GRUNERT 1993). Die insgesamt 60 untersuchten Stuten dieser Studie, sind, entsprechend ihres Alters und dem Reproduktionsstatus, den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen I-IV (juvenil, adult nicht-gravid, gravid und post partum) zugeordnet

worden. Die Stutengruppen I-III konnten mit ausreichend Tieren ausgestattet werden. Lediglich die Stutengruppe IV (postpartale Stuten) verfügt mit drei Stuten über eine nicht genügende Anzahl an Probanden, weshalb sichere Aussagen über Gefäßveränderungen bei dieser Gruppe nicht ohne Vorbehalt getätigt werden konnten.

Bei den untersuchten Stuten hat es sich, wie bereits erwähnt, ausschließlich um Stuten gehandelt, die zur Untersuchung in das Institut für Veterinär-Pathologie überführt worden sind. Eine Probenentnahme am frischtoten Tier konnte aufgrund der damit verbundenen Zeitverzögerung nicht in jedem Fall erfolgen. Ein geringfügiger Einfluss von Autolyse war somit bei einigen Stuten nicht zu vermeiden. Bei diesen Stuten wurde gänzlich auf eine immunhistologische Untersuchung verzichtet. Diese ist lediglich an ausgewählten, repräsentativen Stuten ohne jegliche Anzeichen von Autolyse durchgeführt worden.

### **5.3 Ovarielle Gefäßbefunde**

#### **5.3.1 Histomorphologie stromaler Angiosen im Ovar nicht-gravider Stuten der Untersuchungsgruppen I und II**

Die im Rahmen dieser Studie untersuchten stromalen Gefäße des equinen Ovars sind in erster Linie durch degenerative Veränderungen des arteriellen Gefäßsystems gekennzeichnet. Als mögliche Ursache hierfür ist unter anderem die Funktion des arteriellen Gefäßsystems in Betracht zu ziehen. Als sogenanntes „*Hochdrucksystem*“ dient es der Erhaltung des intravasalen Blutdruckes und der Regulation der Pulswelle (LIEBICH 2003a). Außerdem stellt das Ovar eines der Organe des tierischen Organismus dar, das über eine sehr hohe arterielle, stromale Blutflussrate verfügt, vergleichbar der des Herzens, des Gehirnes und der Niere (BRUCE u. MOOR 1976). Es wäre somit denkbar, dass die damit einhergehende hämodynamische Belastung der arteriellen Gefäßwände, langfristig gesehen, einen Risikofaktor darstellt, der Anpassungsreaktionen und somit arterielle Umbauprozesse hervorruft (STAUBESAND 1980). Den venösen Gefäßen kommt im Bereich des Ovars - aus rheologischer Sicht - keine bedeutende Rolle zu. Als sogenanntes „*Niederdrucksystem*“ des Kreislaufs dienen sie in erster Linie der Rückführung des Blutes zum Herzen (LIEBICH 2003a). Allerdings sind die ovariellen Venen, im Vergleich zu anderen venösen Gefäßen des Körpers, relativ hohen Sexualhormonwerten ausgesetzt. Im Hinblick auf die Ergebnisse dieser Studie ist jedoch anzunehmen, dass die freigesetzten Hormonkonzentrationen keinen Einfluss auf die Entstehung venöser Angiopathien im Bereich des Ovars besitzen, da das Ausmaß ovarieller, stromaler Phlebosen nachgewiesener Maßen eher dezent ist. Inwieweit Ovarialhormone auf direktem Weg über Hormonrezeptoren an der Gefäßwand agieren, ist

nicht klar, da Angaben speziell über das Vorkommen von Östrogen- und Progesteron-Rezeptoren an ovariellen, stromalen Gefäßstrukturen fehlen. Bekannt ist allerdings, dass im Bereich arterieller Gefäße außerhalb des Ovars (Uterus, Tuben und Vagina) Hormonrezeptoren vorkommen (DÖCKE 1994).

Im Rahmen dieser Studie konnten im Bereich der ovariellen, stromalen Arterien der zyklierenden, nicht-graviden Stuten (Untersuchungsgruppe II) hauptsächlich altersassoziierte Ablagerungen kollagener Fasern (Fibrosen) in der Gefäßwand sowie eine deutlich hyperplastische Intima festgestellt werden. Die sklerotisierenden Veränderungen nehmen ihren Ursprung in der Intima und dehnen sich, primär mit zunehmendem Alter, progressiv fortschreitend auf die Media und letztendlich, mit ansteigender Anzahl an Abfohlungen, auch auf die gesamte Gefäßwand aus. Immunhistologisch war bei den zyklierenden, nicht-graviden Stuten, ebenfalls in Abhängigkeit vom Alter, im Bereich der massiv hyperplastischen Intima ein starker Anstieg Vimentin- und  $\alpha$ -Aktin-exprimierender Zellen nachweisbar. Diese Verbreiterung der Intima ist somit nicht nur auf eine Zunahme der extrazellulären Matrix (insbesondere auf eine vermehrte Kollagensynthese), sondern vor allem auf zelluläre Strukturen (Hyperzellularität) zurückzuführen (s. Abb. 5.1 auf S. 89). Dieselbe Zellpopulation mit dem gleichen immunhistologischen Expressionsmuster konnte auch innerhalb der Adventitia festgestellt werden. Bei diesen Zellen handelt es sich, entsprechend ihres immunhistologischen Expressionsmusters (SAPPINO et al. 1990), definitionsgemäß höchstwahrscheinlich um Myofibroblasten vom  $V^+A^+D^-$ -Typ. Diese kommen physiologischerweise nicht in der Gefäßwand vor. Sie spielen eine wichtige Rolle in der Wundheilung nach traumatischen Insulten, hauptsächlich sind sie jedoch an pathologischen Prozessen wie z.B. zahlreichen fibrosierenden Bindegewbserkrankungen beteiligt. Eine myofibroblastische Differenzierung von Zellen wird als wichtiger Indikator für progressive Erkrankungen angesehen (BADID et al. 2000). Bei den Zellen handelt es sich um modifizierte Fibroblasten, die  $\alpha$ -Aktin im Zytoskelett exprimieren und somit morphologische und biochemische Eigenschaften von glatten Muskelzellen (VSMCs) besitzen (SCHÜRCH et al. 1992). Über den Ursprung der, im Rahmen dieser Studie, intramural (subendothelial und adventitial) nachgewiesenen Myofibroblasten vom  $V^+A^+D^-$ -Typ kann lediglich spekuliert werden. Es ist zu vermuten, dass verschiedene exogene und endogenen Faktoren (Hämodynamik, Gravidität, Alter, Hormone, autokrine und parakrine Einflussfaktoren) an der zellulären Transformation aus Fibroblasten beteiligt sind. Als eine mögliche Ursache könnten hämodynamische Veränderungen, beispielsweise im Verlauf des Zyklus, eine Rolle spielen. Zahlreiche dopplersonographische Blutfluss-messungen am weiblichen Genitalapparat (inkl.

des Ovars) belegen zyklusabhängige Veränderungen des Blutflussvolumens sowie des peripheren Gefäßwiderstandes (RI und PI) (SCHOLTES et al. 1989, SLADKEVICIUS et al. 1993, LUNENFELD et al. 1996, TAN et al. 1996, BOLLWEIN et al. 2000). Die höchste Blutflussrate im Ovar ist, bei den verschiedenen Haustierspezies sowie beim Menschen, um den Ovulationszeitpunkt sowie in der Mitte der Lutealphase nachweisbar (MAGNESS et al. 1983, LUNENFELD et al. 1996, WEIN 2003). Es wäre denkbar, dass diese zyklisch immer wiederkehrenden Veränderungen des ovariellen Blutflusses, langfristig gesehen, d.h. mit zunehmendem Alter, zu hämodynamischen Fehlbelastungen der ovariellen Gefäßstrukturen geführt haben.

Am deutlichsten bzw. direkt dem sog. „*shear stress*“ ausgesetzt, ist die luminale Auskleidung der Gefäße, d.h. die einschichtige **Endothelzellschicht**. Diese bildet unter mechanischer Belastung sowie unter Hypertonie vermehrt Elemente des Zytoskelettes (Mikrotubuli und Mikrofilamente) aus und verfügt über die Fähigkeit zur Motilität (BUSS 1984). Auch SAWARD u. ZAHRADKA (1997) stellen im Rahmen ihrer *in vitro*-Untersuchungen an porzinen Koronararterien fest, dass Endothelzellen über ein Migrationsvermögen verfügen, das allerdings geringer ausgeprägt ist, als das von VSMCs der Media. Inwieweit phänotypisch modulierte Endothelzellen, im Bereich des Ovars zur Entstehung einer hyperplastischen Intima beigetragen haben, kann nicht sicher gesagt werden. Es ist aber eher als unwahrscheinlich anzusehen, da das Proliferations- und Migrationsverhalten der endothelialen Zellen in erster Linie dazu dient, nach erfolgter Gefäßschädigung Endotheldefekte zu beheben (REIDY 1985). Außerdem waren immunhistologisch, im Rahmen dieser Studie, auch kein kontraktile Elemente des Zytoskeletts ( $\alpha$ -Aktin) in den Endothelzellen nachweisbar.

Endothelzellen sind weiterhin befähigt, unter hypertensischen Bedingungen, mitogene und chemotaktische Substanzen (z.B. Wachstumsfaktoren) zu synthetisieren. RESNICK et al. (1993) geben an, dass es unter „*shear stress*“ in den endothelialen Zellen zur up-Regulation des *platelet-derived growth factors* (PDGF-B) kommt. Bei diesem Zytokin handelt es sich um einen *transforming growth factor*, der adventitielle Fibroblasten als Zielzellen besitzt, um diese zur Proliferation und Transformation in Myofibroblasten anzuregen (OH et al. 1998). Der gleiche Effekt kann auch nach mechanisch bedingten, endoluminalen Gefäßschädigungen (Endothelschäden) beobachtet werden. Im Falle eines sehr starken vaskulären Schadens unter Einbezug der Media (mediale Ruptur) ist eine noch deutlichere Umdifferenzierung adventitialer Fibroblasten zu Myofibroblasten festzustellen (SHI et al. 1996a). Einzelne Autoren geben allerdings an, dass keine direkte endoluminale Gefäßschädigung (= intaktes Endothel), sondern lediglich eine selektive Noxe im Bereich der Adventitia vorliegen muss,

damit es zur Aktivierung und somit myofibroblastischen Differenzierung von Zellen in dieser äußeren Gefäßschicht kommt (BOOTH et al. 1989). Im vorliegenden Fall konnten im Bereich der Adventitia ovarieller Gefäße ebenfalls zahlreiche Myofibroblasten vom  $V^+A^+D^-$ -Typ nachgewiesen werden. Es ist demzufolge anzunehmen, dass endothel-bedingte Einflussfaktoren möglicherweise hinsichtlich der Pathogenese ovarieller Gefäßveränderungen in Betracht zu ziehen sind. Einschränkend muss jedoch gesagt werden, dass massive Gefäßschädigungen, in Form von totalen oder partiellen Arterienrupturen, im untersuchten Material nicht vorgelegen haben.

Inwieweit die **Media**, neben dem Endothel, als Ursprung degenerativer Gefäßveränderungen im Bereich des equinen Ovars fungiert haben könnte, ist ebenfalls rein spekulativ. Die Mediamyozyten der untersuchten ovariellen Arterien der zyklierenden, nicht-graviden Stuten sind immunhistologisch, sowohl in Abhängigkeit vom Alter als auch der Parität, durch einen relativen Anstieg Vimentin-exprimierender Zellen bei gleichzeitiger Abnahme Desmin-exprimierender Zellen gekennzeichnet. Es ist zu vermuten, dass es sich bei diesen Zellen um die bereits beschriebenen, metabolisch aktiven VSMCs (*m*-Phänotyp) handelt. Alternativ ist, aufgrund der zusätzlichen immunhistologischen Expression von  $\alpha$ -Aktin, noch an Myofibroblasten zu denken. Diese sind jedoch nicht von den phänotypisch modifiziert VSMCs (*m*-Phänotyp) abzugrenzen, da sich beide, sowohl funktionell als auch hinsichtlich des Zytoskelettes, kaum voneinander unterscheiden. Mit Hilfe der verwendeten immunhistologischen Zytoskelett-Marker (Vimentin, Desmin und  $\alpha$ -Aktin) ist eine Differenzierung nicht möglich (ZALEWSKI u. SHI 1997) gewesen. Im Rahmen neuerer Studien zur Darstellung vaskulärer Myofibroblasten (MAENG et al. 2003), ist ein anderer, VSMC-spezifischer Marker („*Smoothelin*“) zur Anwendung gekommen, mit dessen Hilfe innerhalb der Media eindeutig glatte Muskelzellen (VSMCs) von Myofibroblasten zu unterscheiden waren.

Beide in Frage kommenden Zelltypen (VSMCs vom *m*-Phänotyp und Myofibroblasten) ähneln sich funktionell sehr. Bei beiden handelt es sich um potentielle ECM-Bildner, die vermutlich zur Ablagerung vorwiegend kollagener Faserelemente im Bereich der Media ovarieller Gefäße beigetragen haben könnten. Die in dem Zusammenhang möglicherweise erfolgte Aktivierung kontraktile VSMCs zu metabolisch-aktiven, faserhaltige Grundsubstanz bildenden Mediamyozyten, ist auf vielfältige Weise möglich. Insbesondere der autokrinen Stimulation der VSMCs wird eine bedeutende Rolle zugesprochen. NILSSON (1987) weist darauf hin, dass glatte Muskelzellen aus dem Bereich der Aorta in der Lage sind, temporär ein PDGF-ähnliches Mitogen zu produzieren, um sich auf diese Weise selbst zu aktivieren. Weiterhin ist eine VSMC-Proliferation noch auf parakrinem Weg durch thrombozytär

freigesetzte Zytokine wie TGF $\beta$  sowie PDGF möglich (ASSOIAN u. SPORN 1986, MAJACK et al. 1990). Darüber hinaus geben ROSS u. GLOMSET (1976) an, dass eine VSMC-Proliferation auch durch Endothelläsionen, z.B. nach mechanischer Schädigung der Arterienwand, hervorgerufen werden kann (s. Abb. 5.1 auf S. 89). Im Falle endothelialer Alterationen fällt die sog. "Mitosebremse" der Endothelien weg. Das wiederum bedeutet, dass Endothelien keine Faktoren mehr produzieren, die die Mediamyozyten an der Proliferation hindern. Auf diese Weise kann die pathogenetisch ungünstige Umwandlung der VSMCs in die metabolisch aktive Form (= *m*-Phänotyp) erfolgen, was mit der Bildung großer Mengen faserhaltiger Grundsubstanz einhergeht (RIEDE et al. 1989). Beim vorliegenden Untersuchungsgut sind autokrine und parakrine Regulationsmechanismen als Initiatoren degenerativer Angiopathien denkbar. Mehr oder weniger ausgeschlossen werden kann dagegen der ätiopathogenetische Einfluss beschädigter Endothelien, da in dem vorliegenden Untersuchungsgut keine lichtmikroskopisch zu erfassenden Endotheldefekte festgestellt werden konnten.

Neben der Media wird von vielen Autoren vor allem der **Adventitia** eine bedeutende Rolle bezüglich der Pathogenese arterieller Gefäßumbauprozesse zugesprochen. Auch im vorliegenden Untersuchungsgut konnten massive Veränderungen im Bereich der Adventitia arterieller Gefäße im equinen Ovar festgestellt werden. Wie bereits erwähnt, war diese äußere Gefäßschicht immunhistologisch durch das Auftreten zahlreicher Myofibroblasten vom V<sup>+</sup>A<sup>+</sup>D<sup>-</sup>-Typ gekennzeichnet. Bei diesen Zellen handelt es sich ursprünglich um Fibroblasten, einen Zelltyp, der physiologischerweise nur in der Adventitia vorkommt (ROSS u. GLOMSET 1973). Da es sich gemäß den Ausführungen von ZALEWSKI u. SHI (1997) bei diesen mesenchymalen Zellen (Fibroblasten) um die reaktivsten in der arteriellen Gefäßwand handelt, ist es nicht verwunderlich, dass es in zahlreichen Studien, inkl. den eigenen Untersuchungen, durch verschiedenste Einflüsse zur deutlichen Aktivierung und Transformation der Zellen in Myofibroblasten gekommen ist. Welche endogenen oder exogenen Insulte nun speziell im Bereich der Adventitia der stromalen ovariellen Arterien der nicht-graviden Stuten zum Tragen kamen, bleibt unklar und kann nur diskutiert werden.

Als ein möglicher stimulierender Faktor werden, laut Literaturangaben, adventitielle Zellinfiltrationen mit Entzündungszellen (neutrophile Granulozyten, Makrophagen) angesehen. Diese werden insbesondere nach mechanischen (OKAMOTO et al. 2001) sowie thermischen (BAYES-GENIS et al. 2002) Insulten im Bereich der Gefäßwand chemotaktisch angelockt und sind in der Lage, spezifische Zytokine (Interleukine) und Wachstumsfaktoren (PDGF, TGF  $\alpha/\beta$ , IGF-1, TNF- $\alpha$ ) freizusetzen (MOULIN 1995). Auf diese Weise wird eine



Aktivierung der Fibroblasten mit nachfolgender phänotypischer Modifikation, Proliferation und transvasaler Migration Richtung Intima sowie eine gesteigerte Synthese der ECM (vermehrte Fibroplasie) induziert (ROSS u. GLOMSET 1976, SHI et al. 1996b, SHI et al. 1996c, OH et al. 1998). Daneben besteht die Hypothese, dass diese aus dem Blut stammenden mononukleären Leukozyten befähigt sind, eine fibroblasten-ähnliche Morphologie anzunehmen (SAPPINO et al. 1990). Im Zusammenhang mit dem Auftreten von Makrophagen im Bereich der Adventitia kann es außerdem noch zur Aktivierung der leukozytären NAD(P)H-Oxidase kommen, was zu einer Erhöhung der endogenen Produktion freier Radikale ( $O_2^-$ ) führt (REY u. PAGANO 2002). Der damit einhergehende sog. „*oxidative stress*“ hat ein redox-abhängiges Zellwachstum der adventitialen Fibroblasten sowie deren phänotypische Transdifferenzierung in Myofibroblasten zur Folge (SHI et al. 2001). Im vorliegenden Fall ist eine durch Leukozyten bedingte zelluläre Transformation der adventitialen Fibroblasten infolge oxidativen Stresses eher als unwahrscheinlich anzusehen, da, im Rahmen der histologischen Untersuchung des equinen Ovars, kaum leukozytäre Entzündungszellinfiltrate im Bereich der arteriellen Gefäße nachweisbar waren. Es konnten lediglich vereinzelt, durch neutrophile Granulozyten hervorgerufene, eitrige Arteriitiden/Periarteriitiden festgestellt werden (s. Kap. 4.2.2.2.2 auf S. 48). Makrophagen waren im Gegensatz dazu in keinem einzigen Fall zu erkennen.

Neben einer entzündlichen Komponente können im Bereich der Adventitia noch autokrine und parakrine Einflüsse eine entscheidende Rolle spielen. Zahlreiche von aktivierten Fibroblasten freigesetzten Zytokine/Wachstumsfaktoren können die fibroblastische Proliferation und phänotypische Transformation beeinflussen. Beispielsweise ist der von stimulierten Fibroblasten synthetisierte Wachstumsfaktor TGF  $\beta$ 1 befähigt, auf autokrinem (endogenem) Wege, zur eigenen Aktivierung mit nachfolgender myofibroblastischen Differenzierung zu führen. Eine exogene, parakrine Stimulation der Fibroblasten kann, im Gegensatz dazu, wie bereits erwähnt, durch Thrombozyten erfolgen, die im Rahmen von Gefäßverletzungen („*vascular injury*“) angelockt werden (SHI et al. 1996c). Am Wechselspiel der Zytokine und der Wachstumsfaktoren können neben TGF  $\beta$  als „*fibrotic cytokine*“ auch Metalloproteinasen (MMPs) sowie deren *Tissue inhibitors* (TIMPs) beteiligt sein (s. Abb. 5.1 auf S. 89). Bei den MMPs handelt es sich um zink-abhängige Endopeptidasen, die von adventitialen Fibroblasten, aber auch VSMCs, Endothelzellen und Entzündungszellen (Makrophagen und Lymphozyten) freigesetzt werden (BORDEN u. HELLER 1997). Es ist in der Literatur beschrieben, dass es nach mechanischer Gefäßverletzung unter Kulturbedingungen (*in-vitro*) zu einer vermehrten Synthese von

Matrix-Metalloproteinasen kommt, was die Migration aktivierter Fibroblasten aus dem Bereich der Adventitia erleichtert und die Formation einer hyperplastischen Intima zur Folge hat (SHI et al. 1999).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die verschiedensten endogenen und exogenen Einflüsse hinsichtlich der Entstehung ovarieller, stromaler Angiopathien bei der Stute in Frage kommen. Der Ursprung der vaskulären Veränderungen kann sowohl in der Adventitia (Fibroblasten, Entzündungszellen), in der Media (VSMCs) als auch in der Endothelzellschicht liegen, wobei die verschiedensten Insulte (Hämodynamik, Hormone, Zytokine/Wachstumsfaktoren) möglicherweise als Auslöser fungieren (s. Abb. 5.1 auf S. 89).

Neben diesen vom Gefäßsystem ausgehenden Faktoren ist insbesondere im equinen Ovar noch daran zu denken, dass auch das ovarielle Stroma als Ausgangspunkt für die beobachteten degenerativen Gefäßveränderungen agieren könnte. Bei den stromalen Zellen handelt es sich, entsprechend den eigenen vorgenommenen Untersuchungen, ebenfalls um Myofibroblasten vom  $V^+A^+D^-$ -Typ. Auch ELLENBERGER (2003) hat im Rahmen ihrer immunhistologischen Untersuchungen am equinen Ovar eine myofibroblastische Differenzierung der Stromazellen nachgewiesen. Es wäre somit denkbar, dass es sich bei den intramural (subendothelial und adventitial) nachgewiesenen Myofibroblasten vom  $V^+A^+D^-$ -Typ möglicherweise auch um solche stromalen Ursprungs handelt. Unterstützt wird diese Theorie von (SHIBUYA et al. 1994). Die Autoren stellen im Rahmen ihrer Untersuchungen an der V. cava inferior des Kaninchens fest, dass transformierte Fibroblasten (= Myofibroblasten) aus dem „extravaskulären Raum“, unter Einfluss von Polytetrafluoroethylen, zur Entstehung einer Pseudo- oder Neointima beigetragen haben. Darüber hinaus wird auch extravaskulär vorkommenden, modifizierten, pluripotenten Blutzellen die Fähigkeit zur Transformation in Myofibroblasten zugesprochen, wobei die Bildung einer hyperplastischen Intima entweder über Endotheldefekte (SOTTIURAI u. BATSON 1983) oder über eine transvasale Migration verläuft.

### **5.3.2 Histomorphologie stromaler Angiosen im Ovar gravider und postpartaler Stuten der Untersuchungsgruppen III und IV**

Die stromalen, ovariellen Arterien der graviden (3.-10. Trächtigkeitsmonat) und postpartalen Stuten (1.-11. Tag post partum) zeichnen sich histologisch durch spezielle Gefäßbefunde aus, die sich im Rahmen der bestehenden oder vorangegangenen Gravidität entwickelt haben. Diese sind somit als graviditätsspezifische Merkmale zu werten. Neben einer hyperplastischen und vakuolisierten Intima mit Ablagerung elastischer und kollagener Fasern

(Intimaelastofibrose) sind die ovariellen Arterien im Bereich der Media vor allem durch elastolytische und kollagenolytische Prozesse sowie innerhalb der Adventitia durch eine ausgesprochene Ödematisierung gekennzeichnet. Im Gegensatz dazu, sind die venösen Gefäße sowie die Arteriolen eher dezent (ggr. Perielastosen), meist jedoch gar nicht, von degenerativen Veränderungen betroffen.

Besonders auffällig ist die zunehmende Ablagerung elastischer Faserelemente innerhalb der Intima ovarieller Arterien. Dabei handelt es sich um ein Phänomen, das auch bei den nicht-graviden, multiparen Stuten der Untersuchungsgruppe II nachgewiesen werden konnte. Die Zunahme von Elastin innerhalb der Gefäßwand ist von PANKOW (1906) sowie zahlreichen anderen Autoren (ALBERT u. BHUSSRY 1967, KAMIYA u. DAIGO 1989, GRÜNINGER 1996, WREDE 1999), allerdings innerhalb uteriner Gefäße, als charakteristische Graviditätsveränderung („*Graviditätssklerose*“) interpretiert worden. Als Ursache für diese Gefäßveränderungen wird eine vermehrte uterine Perfusion (Hypertension) angesehen. Im Bereich des Ovars stellt sich diese trächtigkeitsspezifische Zunahme elastischer Fasern, nachgewiesener Maßen, allerdings in deutlich abgeschwächter Form dar.

Andere Autoren postulieren, dass es sich bei dem Gefäßbefund (Intimaelastose) um einen altersspezifischen Prozess („*senile Elastose*“) handelt. BUSS (1984) beispielsweise gibt an, dass besonders im Ovar und im Uterus alter Frauen plattenförmige Aggregationen von Substanzen nachweisbar sind, die sich mit der Elastika-Färbung darstellen lassen. Auch HOSODA et al. (1984) konnten im Rahmen ihrer biochemischen Untersuchungen an der A. pulmonalis adulter Individuen einen altersabhängigen Anstieg des Elastingehaltes nachweisen. Im vorliegenden Fall ist es jedoch wahrscheinlicher, dass es sich bei der Zunahme der elastischen Fasern (Intimaelastose) im Bereich der arteriellen Gefäße der graviden und postpartalen Stuten, primär um ein graviditätsspezifisches Merkmal handelt, das im Vergleich mit dem Uterus, aufgrund der "peripheren Lokalisation" des Ovars innerhalb des weiblichen Genitaltraktes, deutlich geringer ausgeprägt ist. Es ist zu vermuten, dass rheologisch bedingte Veränderungen im Bereich ovarieller Gefäße aufgrund der größeren Distanz zum Uterus eine eher untergeordnete Rolle spielen.

Darüber hinaus ist die Media arterieller Gefäße beider Stutengruppen typischerweise noch durch den Verlust elastischer sowie kollagener Fasern (Elastolyse/Kollagenolyse) charakterisiert. Als Ursache hierfür geben RIEDE et al. (1989) Zytoplasmanekrosen an, die sich infolge destruierender Fibrosierungsprozesse im Rahmen länger bestehenden Bluthochdruckes entwickeln. Die zugrundegehenden Mediamyozyten (VSMCs) setzen dabei lysosomale Proteasen frei, die die extrazellulär lokalisierten elastischen und kollagenen

Fasern andauen (RIEDE et al. 1989). Zwar konnten im vorliegenden Untersuchungsgut histologisch keine massiven Zytoplasmanekrosen im Bereich der Media nachgewiesen werden, jedoch ist aufgrund der starken Faserablagerungen eine Beeinträchtigung der Mediamyozyten und somit eine Änderung des ECM-Stoffwechsels nicht auszuschließen. Wie dopplersonographische Untersuchungen der A. uterina zeigen, treten ausgeprägte Hochdruckbelastungen im Verlauf einer Trächtigkeit auf (BOLLWEIN et al. 1999). Im Gegensatz dazu ist im Puerperium eher ein rapider Abfall des ovariellen und uterinen Blutflussvolumens bei der Stute zu verzeichnen (WOSCHEE 1999). Es muss allerdings berücksichtigt werden, dass nicht alle Arterien des Körpers gleich auf Hochdruckbelastungen reagieren. Als Prädilektionsstelle hierfür fungieren insbesondere die peripheren Organarterien, die elastinarm und reich an glatter Muskulatur sind (RIEDE et al. 1989), so wie die des equinen Ovars. Neben graviditätsassoziierten Einflüssen spielen vermutlich zusätzlich auch altersbedingte Faktoren, wie z.B. eine verstärkte Protease-Aktivität der VSMCs eine Rolle (HORNEBECK u. ROBERT 1986), die kollagenolytische und elastolytische Prozesse initiieren können.

Die Arterien der graviden Stuten sind noch durch eine deutliche Bindegewebshauflockerung im Bereich der Adventitia gekennzeichnet. Laut Literaturangaben tritt eine Ödematisierung hormonbedingt, aufgrund hoher Progesteronwerte, physiologischerweise während der Trächtigkeit im ovariellen Stromas auf und ist auf eine vermehrte Proteoglykanproduktion zurückzuführen (RIEDE et al. 1989). Diese konnte allerdings im vorliegenden Untersuchungsgut im Bereich des Stromas nicht nachgewiesen werden. Auch eine mögliche Verbindung zum Sektionsbefund - beispielsweise in Form einer Uterustorsion, durch die eine adventitiale Ödematisierung noch zu erklären wäre - konnte bei den betroffenen Stuten nicht hergestellt werden. Es ist zu vermuten, dass die adventitiale Ödematisierung wohl am ehesten auf eine erhöhte Gefäßpermeabilität in dieser Phase (Gravidität) zurückzuführen ist.

Neben den graviden Stuten sind auch solche im Puerperium (1. und 11. Tag pp) von der Ödematisierung betroffen. Diese kann zu einem Zeitpunkt beobachtet werden, an dem die Progesteronkonzentration im Blut bereits massiv abgesunken ist (HOFFMANN 1993). Daraus kann geschlussfolgert werden, dass die Resorption bzw. der Abbau des Gewebeödems den Änderungen der Serumhormonwerte zeitlich „hinterherhinkt“. Bei einer 28 Tage post partum befindlichen Stute sind die graviditätsspezifischen Merkmale (Intimaelastose, Kollagenolyse / Elastolyse, Ödematisierung) kaum mehr zu erkennen. Die puerperale Gefäßinvolution im Ovar scheint zu diesem Zeitpunkt weitgehend abgeschlossen zu sein. Eine sichere Aussage kann jedoch aufgrund der geringen Probandenzahl nicht getätigt werden.

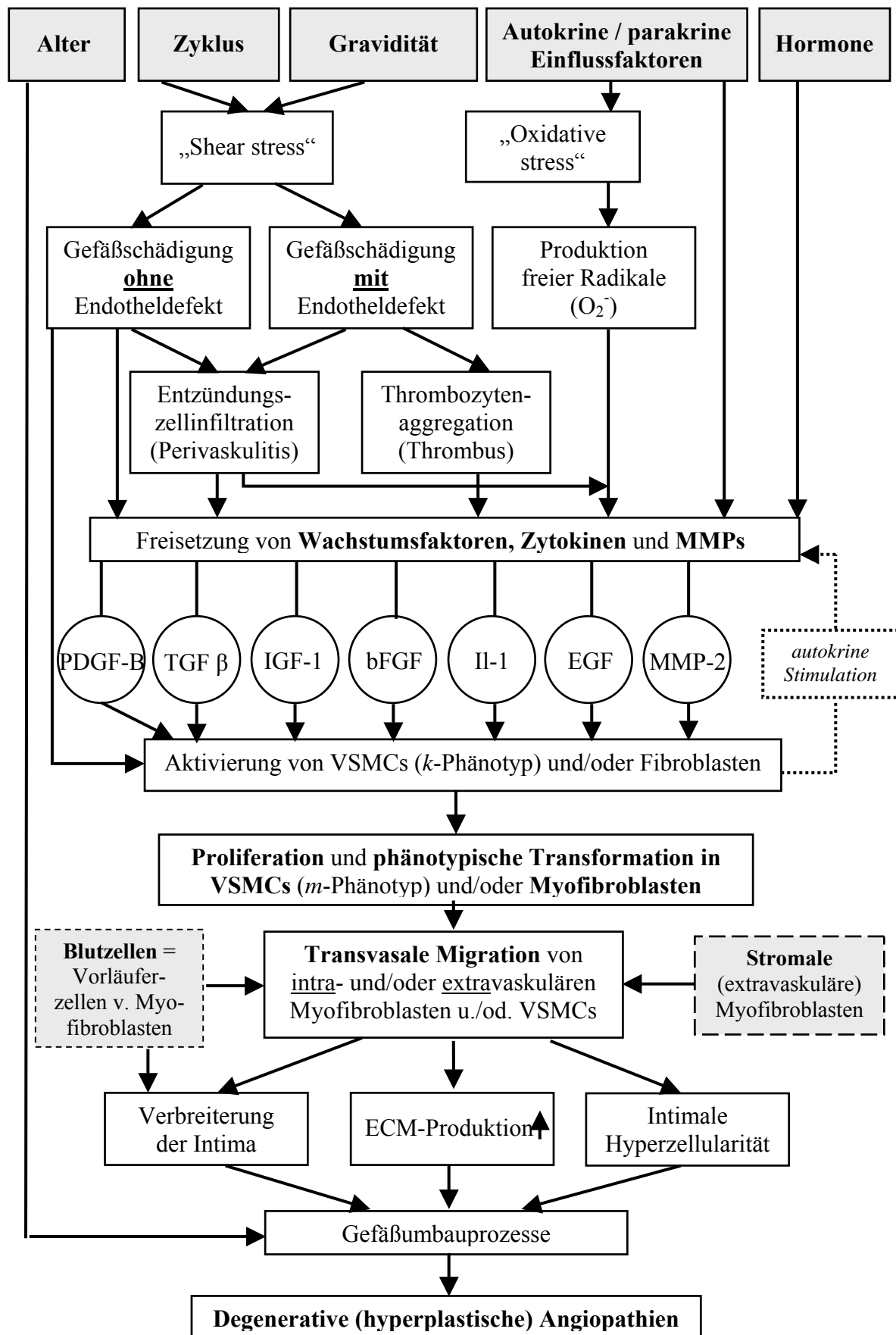


Abb. 5.1: Zusammenstellung möglicher pathogenetischer Einflussfaktoren bezüglich der Entstehung degenerativer Angiopathien im Bereich des ovariellen Stromas der Stute

## 5.4 Extraovarielle und extrauterine Gefäßbefunde

### 5.4.1 Histomorphologie extraovarieller und extrauteriner Angiopathien nicht-gravider (Gruppe I und II), gravider (Gruppe III) und postpartaler Stuten (Gruppe IV)

Die extraovariellen und extrauterinen Gefäße zeigen bei allen untersuchten nicht-graviden Stuten der Gruppe II qualitativ ähnliche Veränderungen. Es ist allerdings festzustellen, dass die extraovariellen Gefäße geringfügig (d.h. um zirka  $\frac{1}{2}$  GSI-Grad) stärker alteriert sind als die extrauterinen Gefäße. Insbesondere in Abhängigkeit vom Alter, aber auch von der Parität sind Unterschiede im Ausprägungsgrad der Alterationen zu erkennen. Von den Veränderungen sind primär die arteriellen Gefäße betroffen. Die korrespondierenden Venen zeigen kaum Veränderungen, zum Teil haben diese für eine histologische Auswertung auch nicht zur Verfügung gestanden.

Die großen, im Ligamentum latum uteri verlaufenden Gefäße der nicht-graviden (Gruppe II), graviden und postpartalen Stuten (Gruppe III und IV) sind durch degenerative Veränderungen gekennzeichnet, die sich auf die gesamte Gefäßwand (Panfibroelastosen und Panfibrosen) erstrecken. Ursächlich könnten die Befunde möglicherweise auf die funktionellen Eigenschaften der großen Arterien zurückzuführen sein. Diese übernehmen als Blut zuführende Arterien hinsichtlich der Hämodynamik eine wesentlich größere Aufgabe im Vergleich zu den ovariellen, im Stroma eingebetteten Arterien. Da die extraovariellen und extrauterinen Gefäße kaum von perivaskulärem Gewebe umgeben sind, ist zu vermuten, dass Druckbelastungen schlechter abgepuffert werden können. Einwirkende Dehn- und Scherkräfte, die normalerweise von der Adventitia aufgenommen (BUCHER u. WARTENBERG 1989) und vermutlich auch zum Teil an das umgebende Gewebe weitergeleitet werden, müssen bei diesen Gefäßen von der Adventitia allein kompensiert werden. Als Folge treten nicht nur Degenerationserscheinungen in der Intima und der Media auf, sondern auch die Adventitia - und somit die gesamte Gefäßwand - ist von Veränderungen betroffen.

Immunhistologisch kann festgestellt werden, dass sowohl die extraovariellen als auch die extrauterinen Gefäße ein Expressionsmuster aufweisen, das dem der ovariellen Gefäße sehr ähnelt. Auch innerhalb der großen, im Ligamentum latum uteri verlaufenden Arterien sind intimal sowie adventitial myofibroblastische Differenzierungsformen nachweisbar. Neben dem  $V^+A^+D^-$ -Typ, können auch Myofibroblasten vom besser differenzierten  $V^+A^+D^+$ -Typ (SAPPINO et al. 1990), bei denen es sich alternativ auch um glatte Muskelzellen handeln könnte, festgestellt werden. Die Präsenz von Myofibroblasten läßt darauf schließen, dass ähnliche pathogenetische Einflussfaktoren wie im Ovar vorliegen. Allerdings muss

diesbezüglich eine Unterscheidung zwischen extraovariellen und extrauterinen Gefäßen getroffen werden. Im Bereich der A. uterina spielen vermutlich primär hämodynamische Fehlbelastungen („*shear stress*“) infolge hohen Blutdrucks eine Rolle. Die Arterie hat insbesondere im Verlauf einer Trächtigkeit, wie zahlreiche dopplersonographische Untersuchungen bei der Stute belegen (MAYER et al. 1998, WOSCHEE 1999), einer deutlich ansteigenden Blutflussgeschwindigkeit entgegenzuwirken. Die A. ovarica dagegen ist in geringerem Umfang dem Einfluss der Hämodynamik ausgesetzt (WOSCHEE 1999). Demzufolge sind im extraovariellen Bereich wahrscheinlich andere, womöglich zyklisch-hormonelle und parakrine Faktoren, ätiopathogenetisch wirksam.

Die extraovariellen und extrauterinen Gefäße der graviden und postpartalen Stuten der Untersuchungsgruppe III und IV sind im Vergleich zu den ovariellen Gefäßen durch ähnliche Gefäßbefunde charakterisiert. Auch diese zeigen die typischen graviditätsspezifischen Merkmale (Intimaelastose, Elastolyse im Bereich der Media), die sich im Verlauf einer Trächtigkeit sowie kurze Zeit post partum eingestellt haben. Die erhobenen Gefäßbefunde werden durch die Untersuchungen von LUDWIG (2003) gestützt, die histologisch ebenfalls kollagenolytische und elastolytische Prozesse an den extrauterinen Gefäßen gravider Stuten feststellen konnte. Dies wiederum erhärtet den Verdacht, dass die im Ovar festgestellten graviditätsspezifischen Befunde, wie vermutet, ihren Ursprung im uterinen / extrauterinen Bereich haben.

## **5.5 Uterine Gefäßbefunde**

### **5.5.1 Histomorphologie uteriner Angiopathien nicht-gravider (Gruppe I und II), gravider (Gruppe III) und postpartaler Stuten (Gruppe IV)**

Die uterinen (= endometrialen und myometrialen) Gefäße der vorliegenden Studie zeichnen sich, unabhängig von der Untersuchungsgruppe, vorwiegend durch das massive Auftreten elastischer Faserelemente im Bereich der gesamten Gefäßwand aus. In erster Linie handelt es sich dabei um, im Ausprägungsgrad variierende, teils destruierende Panelastosen und Panelastofibrosen, die sich primär im Zuge von Trächtigkeiten entwickelt haben. Außerdem ist festzustellen, dass myometriale Gefäße graduell stärker alteriert sind, im Vergleich zu den endometrialen Gefäßen. Diese, im Rahmen der vorliegenden Studie erhobenen uterinen Gefäßbefunde, gehen konform mit den Ergebnissen von LUDWIG (2003). Die Autorin konnte gleichermaßen, in Abhängigkeit von der Anzahl der Abfohlungen, massive elastofibrotische Gefäßveränderungen unter Einbezug der gesamten Gefäßwand im Bereich des equinen Endo- und Myometriums nachweisen. Auch sie gibt an, dass bei zirka einem

Drittel der histologisch untersuchten Stuten die vaskulären Veränderungen im Bereich des Myometriums graduell stärker ausgeprägt waren.

Neben diesen aufgeführten Befunden ist im Rahmen dieser Studie noch besonders aufgefallen, dass die untersuchten arteriellen und venösen Gefäße des Uterus graduell im gleichen Ausmaß degenerativ alteriert waren. Auch GRÜNINGER (1996) und SCHOON et al. (1997a) haben feststellen können, dass die Inzidenz arterieller und venöser Angiosen im Bereich des Endometriums weitgehend gleich ist. Es ist demzufolge anzunehmen, dass beide Gefäßtypen in dieser Lokalisation (intrauterin), im Gegensatz zum Ovar, eine ähnlich große Bedeutung besitzen bzw. vergleichbaren mechanischen Belastungen ausgesetzt sind.

Die Pathogenese intrauteriner (d.h. endometrialer und myometrialer) degenerativer Angiopathien bei der Stute ist bereits Gegenstand zahlreicher histologischer und elektronenmikroskopischer Untersuchungen gewesen (KRIESTEN 1995, GRÜNINGER 1996, WREDE 1999, KERSTEN 2000, LUDWIG 2003). Als Ursache für die progressive Umstrukturierung der uterinen Gefäßwände werden hauptsächlich hämodynamische und hormonell bedingte Umbauvorgänge während der Trächtigkeit und des Puerperiums verantwortlich gemacht (GRÜNINGER et al. 1998, WREDE 1999). Daneben begünstigen kurze Trächtigkeitspausen, chronische Entzündungsvorgänge und eine altersbedingte „Reparaturmüdigkeit“ die Entstehung degenerativer Angiopathien im Bereich des Uterus (GRÜNINGER 1996, SCHOON et al. 1997b).

## **5.6 Histologischer Vergleich ovarieller, extraovarieller/extrauteriner und uteriner degenerativer Angiopathien im weiblichen Genitalapparat der Stute**

Im Bereich des weiblichen Genitaltraktes der Stute fällt auf, dass die Qualität und das Ausmaß der degenerativen Angiopathien maßgeblich in Abhängigkeit von der Lokalisation ausgebildet ist. Die im ovariellen Stroma eingebetteten arteriellen Gefäße sind durch massive, teils destruierende Ablagerungen kollagener Fasern (Fibrosen), bevorzugt im Bereich der Intima und Media, sowie durch eine stark ausgeprägte Intimahyperplasie gekennzeichnet. Der Grad und die Ausdehnung der Fibrosierung innerhalb der Gefäßwand ist eng mit dem Alter assoziiert (*sog. "Alterseffekt"*). Das bedeutet, dass sich, primär mit zunehmendem Alter, die fibrosierenden Veränderungen, ausgehend von der Intima, auf die Media ausbreiten. Während junge Stuten keine bzw. nur dezente ovarielle Gefäßveränderungen im Bereich der Intima aufweisen, zeigen alte Tiere hochgradige, teils destruierende Intima - und Mediafibrosen.

Im Gegensatz dazu, spielen Ablagerungen elastischer Fasern im Ovar der untersuchten Stuten eher eine untergeordnete Rolle. Diese sind lediglich bei multiparen Tieren



(Untersuchungsgruppe II) und bei graviden und postpartalen Stuten (Untersuchungsgruppe III und IV) innerhalb der Intima arterieller Gefäße (Intimaelastosen) sowie, mit schwachem Ausprägungsgrad, im Bereich des venösen Gefäßsystems (in Form von Perielastosen) ausgebildet. Diese Gefäßbefunde verdeutlichen, dass es, im Hinblick auf die Entstehung von degenerativen Angiopathien im Bereich des Ovars, zu einer altersabhängigen Dominanz eines einzigen Fasertypes (Kollagen) kommt. Als Ursache hierfür sind möglicherweise zyklisch bedingte, d.h. endokrinologische Aspekte anzuführen. Im equinen Ovar können, in Abhängigkeit vom Zyklusstand, zahlreiche hormonproduzierende Follikel unterschiedlicher Größe sowie einzelne Gelbkörperstrukturen nachgewiesen werden (ARTHUR 1958). Zu den hauptsächlichsten endokrinologischen Aufgaben des Ovars gehört vor allem die Selektion eines dominanten Follikels, die Follikelreifung bis zur Ovulation sowie die sich anschließende Corpus-luteum-Bildung. Insbesondere der dominante (sprungreife) Graafsche Follikel stellt die entscheidende Östradiolquelle während des Zyklus dar (KARCK u. KECK 2002). Zwar werden endogenen Östrogenen in der Literatur häufig eine protektive Wirkung auf das Gefäßsystem zugesprochen, andererseits sollen sie jedoch auch an der Stimulation der Proteinsynthese der ECM (DÖCKE 1994) sowie an der Freisetzung von Wachstumsfaktoren (z.B. IGF-1, FGF) beteiligt sein. FRIEDERICI (1967) stellt beispielsweise fest, dass es in Endothelzellen und Perizyten uteriner Kapillaren infolge einer Östrogenstimulation zu einer deutlichen Aktivierung des zellulären Syntheseapparates mit einer vermehrten Produktion von Mukopolysacchariden, Mukoproteinen und Kollagenen gekommen ist. Auch IREY u. NORIS (1973) geben an, dass nicht nur exogene, sondern auch endogene Östrogene zu Gefäßveränderungen (Intimaproliferation) führen können. Da derartige Alterationen (Kollagenablagerung, Intimahyperplasie) als typische Befunde im Bereich ovarieller Arterien nachzuweisen sind, wäre es denkbar, dass der Zyklus, als stetig wiederkehrender Einflussfaktor im Bereich des Ovars, möglicherweise eine tragende Rolle spielt. Unterstützt wird diese These noch durch die Tatsache, dass die ovariellen Fibrosen deutlich altersassoziiert auftreten. Denn schließlich sind das fortschreitende Alter sowie der immer wiederkehrende ovarielle Zyklus zeitlich nicht voneinander zu trennen.

Neben der vermehrten Syntheseleistung hormonell-stimulierter (Gefäß)-Zellen, ist die altersabhängige Akkumulation kollagener Fasern im Bereich ovarieller Gefäße vermutlich auch noch auf Degradationsprozesse, allerdings der elastischen Fasern, zurückzuführen. LOEVEN u. BALDWIN (1971) stellen mit zunehmendem Alter im Bereich der Aorta bei der Ratte eine verstärkte Fragmentation der elastischen Fasern infolge einer erhöhten, endogenen, elastolytischen Aktivität fest, die, wie die Autoren vermuten, von den gefäßeigenen VSMCs

und adventitialen Fibrozyten ausgeht. Auch STADLER u. ORFANOS (1978) geben an, dass elastische Fasern Alterserscheinungen unterliegen. Elektronenmikroskopisch sind mit fortschreitendem Alter eine Abnahme der Mikrofilamente, sowie Fragmentationen und Desintegrationen der elastischen Fasern zu verzeichnen. Zu gleichen Erkenntnissen kommen PASQUALI-RONCHETTI u. BACCARANI-CONTRI (1997), die im Bereich elastischer Fasern der Haut irreversible strukturelle Veränderungen (Einlagerung osmiophiler Substanzen) mit zunehmendem Alter haben feststellen können. Auch GRÜNINGER (1996) stellt im Rahmen ihrer Untersuchungen an endometrialen Gefäßen der Stute (Elastase-Resistenz-Test) eine erhöhte Sensibilität der elastischen Fasern gegen enzymatischen Abbauprozessen fest. Ätiopathogenetisch ist demzufolge anzunehmen, dass im Ovar neben hormonell-aktivierenden Einflüssen noch altersbedingte, enzymatische Degradationsprozesse als Initiatoren der massiven Gefäßfibrosen fungieren. Neben einer vermehrten östrogen-induzierten Synthese kollagener Fasern infolge der zyklischen Tätigkeit des Ovars, kommt es womöglich parallel mit zunehmendem Alter zu einem enzymatischen Abbau elastischer Faserelemente innerhalb der ovariellen stromalen Gefäße.

Den ovariellen Gefäßfibrosen stehen die Panelastosen / Panelastofibrosen der intrauterinen Gefäße gegenüber, die sich hinsichtlich der Qualität der Faserablagerungen deutlich von denen des Ovars unterscheiden. Eine Hyperplasie der Tunica intima ist in dieser Lokalisation des weiblichen Genitaltraktes der Stute in keinem einzigen Fall nachweisbar. Während von den ovariellen Gefäßveränderungen in erster Linie die Arterien betroffen sind, sind im Bereich des Uterus, unabhängig von der Untersuchungsgruppe, die arteriellen und venösen Gefäße gleichermaßen alteriert. Diese, die gesamte Gefäßwand betreffenden Veränderungen zeichnen sich dadurch aus, dass sie, wie die semiquantitative Auswertung zeigt, mit zunehmender Anzahl an Graviditäten stärker ausgebildet sind. Altersbedingte Einflüsse, wie sie im Ovar deutlich nachgewiesen werden können, sind im Bereich uteriner Gefäße kaum zu erkennen. Diesen Ergebnissen gegenüber stehen die Befunde von GRÜNINGER (1996), die, allerdings nur im Bereich der endometrialen Gefäße, auch altersabhängige Perifibrosen- und fibroelastosen bei der Stute hat nachweisen können.

Es ist zu vermuten, dass der, im Hinblick auf die Entstehung von degenerativen Angiopathien, für das Ovar typische "*Alterseffekt*" im Uterus, gemäß den Ergebnissen der vorliegenden Studie, keine bzw. nur eine unwesentliche Rolle spielt, da dieser durch den deutlich stärker ausgebildeten, uterinen "*Graviditätseffekt*" vermutlich überlagert wird.

Die paritätsabhängige Zunahme der degenerativen intrauterinen Angiopathien des vorliegenden Untersuchungsgutes könnte zum Einen auf hormonelle Einflüsse

(Progesterondominanz) und zum Anderen auf graviditätsbedingte Blutflussänderungen zurückzuführen sein. Insbesondere das Progesteron könnte ätiopathogenetisch eine Rolle spielen, da es, laut Literaturangaben, im Bereich der Gefäßwand zu einer Akkumulation von Bindegewebe beitragen soll. So stellen FISCHER u. SWAIN (1980) im Rahmen ihrer Studie an ovarioektomierten Ratten nach exogener Progesteron-Applikation eine Verschiebung des Kollagen/Elastin-Verhältnisses zugunsten des Elastins fest. Auch BENDECK et al. (1994) haben beim Schaf im geburtsnahen Zeitraum im Vergleich eine wesentlich größere Akkumulation elastischer Fasern in großen Arterienstämmen feststellen können. Die Autoren führen die vermehrten Elastin-Ablagerungen auf mechanische Einflüsse, d.h. auf die peripartalen Blutflussänderungen zurück. Derartige rheologische Veränderungen können auch bei der Stute im Verlauf der Trächtigkeit nachgewiesen werden. WOSCHEE (1999) und BOLLWEIN et al. (1999) haben im Rahmen ihrer dopplersonographischen Blutflussmessungen an der *A. uterina*, beginnend in der 5. Gestationswoche bis zur Geburt, auf der graviden Seite einen kontinuierlichen Anstieg der mittleren Blutflussgeschwindigkeit auf das Siebenfache feststellen können. NILI et al. (2002) vermuten, dass Elastin möglicherweise wesentlich sensibler auf mechanische Kräfte reagiert als Kollagen, weshalb es zu einer verstärkten Ablagerung in den Gefäßwänden kommt.

Im Vergleich zum Ovar, sind im Bereich des Uterus vermutlich andere ätiopathogenetische Faktoren wirksam, die, wie die semiquantitative Auswertung zeigt, zu den deutlich graviditätsabhängigen Angiopathien (Panelastosen/Panelastofibrosen) geführt haben. Nichtzuletzt ist auch die Spezies Pferd, hinsichtlich der Interpretation der Befunde, als wichtiger Faktor einzustufen, zumal Equiden, im Hinblick auf die Reproduktion, als Leistungstiere anzusehen sind. Jährliche Abfohlungen werden in Züchterkreisen als wünschenswert angesehen. Die daraus resultierende, sich regelmäßig wiederholende mechanische Belastung des Uterus über einen verhältnismäßig langen Trächtigkeitszeitraum, unterstreicht insbesondere den hämodynamischen und mechanischen Aspekt bei der Entstehung intrauteriner Angiopathien (GRÜNINGER 1996, WREDE 1999).

Die extrauterinen und extraovariellen Gefäße als sog. "vaskuläre Verbindung" zwischen Uterus und Ovar, sind, in Abhängigkeit vom Alter und der Parität, durch teils destruierende Panfibroelastosen und Panfibrosen gekennzeichnet. Bei einzelnen älteren Stuten mit mehreren Abfohlungen ist in dem Zusammenhang auch eine hyperplastische Intima festgestellt worden. Auffällig war außerdem, dass die extraovariellen Gefäße etwas stärker (zirka ein halbes Grad) degenerativ alteriert waren, im Vergleich zu den extrauterinen Gefäßen. Hinsichtlich der Qualität der degenerativen Veränderungen nehmen *A. uterina* und *A. ovarica* eindeutig eine

"Zwischenstellung" zwischen den ovariellen Intima- und Mediafibrosen und den intrauterinen Panelastosen ein. Ätiopathogenetisch müssen die im Ligamentum latum verlaufenden Gefäße jedoch getrennt betrachtet werden. Im Bereich der A. uterina spielen, aufgrund der anatomischen Nähe zum Uterus, vermutlich primär hämodynamische Fehlbelastungen („*shear stress*“) infolge hoher Blutflussgeschwindigkeiten eine Rolle. Die A. ovarica dagegen ist im geringerem Umfang diesen Blutflussänderungen ausgesetzt (WOSCREE 1999). Demzufolge sind im extraovariellen Bereich wahrscheinlich andere, möglicherweise zyklisch-hormonelle und parakrine Faktoren, ähnlich wie im Ovar, ätiopathogenetisch wirksam.

### 5.7 Vergleichende semiquantitative Auswertung mit Hilfe des Gefäßschädigungsindex

Um einen Vergleich der Gefäßbefunde aus den unterschiedlichen Lokalisationen des weiblichen Genitalapparates der Stute zu ermöglichen, ist ein semiquantitatives Verfahren in Form eines Gefäßschädigungsindex (GSI) nach LUDWIG et al. (2001) zur Anwendung gekommen. Dabei wurde für die arteriellen Gefäße jeder Stute der Untersuchungsgruppe II aus dem Ovar, dem Endo- und Myometrium sowie den extrauterinen und extraovariellen Gefäßen, ein Gefäßschädigungsindex errechnet. Die verwendete Formel sowie die angewandten Kriterien sind dem Kapitel 3.1.4.3 auf S. 43 zu entnehmen.

Der semiquantitative Vergleich hat ergeben, dass die ovariellen Gefäße der nicht-graviden Stuten der Untersuchungsgruppe II durch vaskuläre Alterationen gekennzeichnet sind, die sich mit zunehmendem Alter deutlicher manifestieren. Die extraovariellen und extrauterinen Gefäße zeigen dagegen sowohl alters- als auch graviditätsassoziierte Umbauprozesse, wobei die extraovariellen Gefäße geringfügig stärker alteriert sind. Die uterinen vaskulären Strukturen weisen Veränderungen auf, die sich, wie vermutet, primär im Zuge von Trächtigkeiten, entwickeln (s. Abb. 4.16 im Kap. 4.8 auf S. 71).

Qualitativ zeichnen sich die uterinen Gefäße, wie bereits erwähnt, in erster Linie durch Einlagerungen elastischer Fasern im Bereich der gesamten Gefäßwand (Panelastosen/Panelastofibrosen) aus. Die extraovariellen und extrauterinen Gefäße der nicht-graviden Stuten der Untersuchungsgruppe II sind beide durch qualitativ ähnliche Gefäßalterationen in Form von Panfibroelastosen gekennzeichnet, während die stromalen Arterien im Bereich des equinen Ovars hauptsächlich durch hyperplastische Intima- und Mediafibrosen charakterisiert sind. Diese histologischen Ergebnisse veranschaulichen ganz deutlich, dass, ausgehend vom Uterus über die extrauterinen und extraovariellen Gefäße, zum Ovar eine kontinuierliche Zunahme der fibrosierenden (= Ablagerung kollagener Fasern) Gefäßveränderungen zu

verzeichnen ist, die primär altersassoziiert deutlicher auftreten.

Wie bereits im Kap. 2.11 auf S. 29 erwähnt, kommt der Endometriumbiopsie beim Vorliegen von Fertilitätsstörungen eine erhebliche diagnostische und prognostische Bedeutung zu. Die Entnahme einer Uterusbiopsie, mit deren Hilfe der histologische Status praesens erhoben wird, liefert wertvolle Hinweise auf in Frage kommende endometrial oder extraendometrial bedingte Störungen (SCHOON et al. 1992). Unterstützt wird diese These durch die histologischen Ergebnisse von LUDWIG (2003), die im Rahmen ihrer Untersuchungen eine, hinsichtlich des Ausprägungsgrades, deutliche Korrelation zwischen den uterinen (endometrialen und myometrialen) und extrauterinen Angiosen im weiblichen Genitaltrakt der Stute feststellen konnte. Die Autorin ist zu dem Ergebnis gekommen, dass mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Rückschluss von endometrialen Angiosen, die mittels Uterusbiopsieprobe erfassbar sind, auf extrauterine Gefäßalterationen möglich ist.

Die vergleichenden histologischen Ergebnisse der vorliegenden Studie, aus dem Bereich des Ovars, der extraovariellen/extrauterinen Gefäße sowie des Uterus, untermauern die von SCHOON et al. (1992) aufgestellte These zusätzlich und erweitern sie gleichzeitig. Die deutliche, altersabhängige Zunahme der fibrosierenden Gefäßalterationen vom Uterus Richtung Ovar läßt die Annahme zu, dass, unter Kenntnis des Alters, nicht nur ein Rückschluss auf den Zustand extrauteriner Gefäße möglich ist, sondern mit hoher Wahrscheinlichkeit auch ein Rückschluss auf den Status praesens extraovarieller und ovarieller, stromaler Gefäßstrukturen gezogen werden kann.

### **5.8 Mögliche funktionelle Auswirkungen von degenerativen Angiopathien aus dem Bereich des ovariellen Stromas auf die Fertilität der Stute**

Bei den, im Rahmen dieser Studie, nachgewiesenen degenerativen Angiopathien im Bereich des ovariellen Stromas handelt es sich, primär in Abhängigkeit vom Alter, um graduell stark ausgeprägte „hyperplastische Angiosklerosen“, die charakteristischerweise durch die Ausbildung einer hyperplastischen Intima gekennzeichnet sind. Diese Form der Gefäßveränderung ist im fortgeschrittenen Stadium, d.h. bei den älteren, multiparen Stuten der Untersuchungsgruppe II, vereinzelt mit einer Lumeneinengung verbunden. Eine vollständige Okklusion des Gefäßlumens ist im Untersuchungsgut allerdings nicht nachweisbar. Als Folge der massiv hyperplastischen Gefäßveränderung im Bereich der stromalen Arterien ist zu vermuten, dass diese die Vaskularisation der nachgeschalteten ovariellen Funktionskörper möglicherweise negativ beeinflussen. Diese Vermutung wird unterstützt durch WEIN et al. (2002), die im Rahmen ihrer dopplersonographischen Untersuchungen am Ovar der Stute eine

deutlich negative Korrelation zwischen der ovariellen Perfusion und dem Vorliegen uteriner Angiopathien haben feststellen können. Unter Berücksichtigung dieser klinischen Studie ist im Ovar - infolge der hyperlastischen Angiopathien - eine Minderperfusion der Funktionskörper sowie eine daraus resultierende Dysfunktion der Follikel- sowie der Gelbkörperstrukturen denkbar. Letztere wiederum könnte ätiopathogenetisch womöglich auf eine Reduktion des hämatogenen Antransports hypophysärer Gonadotropine [Luteinisierendes Hormon (LH), Follikelstimulierendes Hormon (FSH)] zurückzuführen sein. Unterstützt wird diese These von WATSON u. AL-ZI'ABI (2002), die im Rahmen ihrer immunhistologischen Studie feststellen konnten, dass ovarielle Follikel im sog. „Übergangszyklus“ zwischen dem Winteranöstrus und der saisonalen Zuchtsaison wesentlich schlechter vaskularisiert sind, was die Autoren auf eine begrenzte Präsenz von Gonadotropinen zurückgeführt haben. Ätiopathogenetisch ist weiterhin denkbar, dass die verminderte lokale Bioverfügbarkeit von FSH und LH im Bereich des Follikels eine herabgesetzte Expression des *vascular endothelial growth factor* (VEGF) (CHRISTENSON u. STOUFFER 1997) und somit eine Hemmung der follikulären Angiogenese zur Folge haben könnte, resultierend in einer verminderten Vaskularisation der Theca follicularis. Diese wiederum wird, nach den Angaben von GREENWALD (1989), als erstes Anzeichen für eine follikuläre Atresie gewertet.

Neben einer Follikelatresie besteht noch die Möglichkeit, dass auch die Oozyte infolge der follikulären Minderperfusion degenerativ geschädigt wird. Auch dieser Pathogeneseweg verläuft möglicherweise über den zuvor geschilderten, verminderten hämatogenen Antransport von FSH und LH. Wie oben bereits beschrieben, kommt es, aufgrund der unzureichenden Gonadotropin-Konzentration, zu einer Down-Regulation von VEGF in den Granulosazellen. Da dieser Wachstumsfaktor zusätzlich noch eine wichtige Rolle bei Regulation des intrafollikulären Sauerstoffgehaltes und der Entwicklung der Oozyte in den Ovarien der Frau spielt (VAN BLERKOM et al. 1997), ist, infolge der hyperplastischen Angiosklerosen im Ovar, vermutlich keine adäquate Sauerstoffversorgung der follikulären Oozyte mehr möglich. Klinisch könnte sich die beschriebene Follikelatresie sowie die follikuläre Oozytendegeneration in einer herabgesetzten Ovulationsrate sowie einer verringerten Trächtigkeitsrate manifestieren.

Neben degenerativen Veränderungen im Bereich der Follikel, besteht noch die Möglichkeit, dass die hyperplastischen, stromalen Angiosklerosen funktionelle Störungen der Gelbkörperstrukturen zur Folge haben könnten. Nach den Angaben von KARCK u. KECK (2002) ist eine optimale Vaskularisation des Gelbkörpers jedoch besonders wichtig, um den lutealen Funktionskörper ausreichend mit Cholesterin, das als erforderliches Substrat für die

Progesteron-Biosynthese gilt, zu versorgen. Auch FERREIRA-DIAS u. MATEUS (2003) weisen darauf hin, dass die funktionelle Kapazität eines Gelbkörpers bei der Stute maßgeblich vom lutealen Gefäßwachstum (und letztendlich auch von der Durchblutung) abhängig ist. Eine unzureichende luteale Perfusion, wie beispielsweise infolge ausgeprägter, stromaler Angiopathien, könnte in einer herabgesetzten Funktion des Corpus luteum (Gelbkörper-Insuffizienz) münden, nicht zuletzt deshalb, weil die morphologische Funktionseinheit des Corpus luteum (Luteinzelle) mit der Plasma-Progesteron (P4)-Konzentration in direkter Beziehung steht (FERREIRA-DIAS u. MATEUS 2003). Das vom Gelbkörper synthetisierte Progesteron besitzt als Sexualhormon, insbesondere während der Trächtigkeit, wichtige Aufgaben. Es stimuliert die sekretorische Aktivität der uterinen Drüsen und sichert auf diese Weise die Bereitstellung der Embryotrophe (HOFFMANN 1993). Im Falle einer primären oder sekundären Gelbkörper-Insuffizienz, wie sie durch eine luteale Minderperfusion hervorgerufen werden könnte, besteht die Möglichkeit einer nutritiven Unterversorgung des Fetus und somit das erhöhte Risiko eines „embryonalen oder fetalen Fröhrtodes“. Unterstützt wird diese These durch ALLEN (2001), der im Rahmen seiner Untersuchungen bei der Stute hat feststellen können, dass die meisten embryonalen Verluste in der Frühgravidität (d.h. bis zum 40. Trächtigkeitstag) auf eine primäre luteale Insuffizienz (= Funktionsbeeinträchtigung des primären Corpus luteums) zurückzuführen waren.

## 6 Zusammenfassung

Ines Hasenbein

**Histologischer und immunhistologischer Vergleich ovarieller stromaler Angiopathien mit extraovariellen/extrauterinen und uterinen degenerativen Gefäßveränderungen aus dem weiblichen Genitalapparat der Stute**

**Institut für Veterinär-Pathologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig**

**Eingereicht im Oktober 2007**

(103 Seiten, 27 Abbildungen, 31 Tabellen, 267 Literaturangaben, 13 Seiten Anhang)

Schlüsselwörter: (Immun)-histologische Vergleichsstudie; histomorphologische Charakterisierung ovarieller, extraovarieller/extrauteriner, uteriner degenerativer Angiopathien; Stute

Das Ziel dieser Studie war einerseits die histomorphologische Beschreibung und Charakterisierung der stromalen ovariellen und extraovariellen Angiopathien und andererseits der qualitative und quantitative histologische Vergleich der ovariellen mit den extraovariellen/extrauterinen und uterinen Gefäßalterationen aus dem weiblichen Genitaltrakt der Stute. Zu diesem Zweck wurden von insgesamt 60 Stuten, die in Abhängigkeit vom Alter und der Parität in vier Untersuchungsgruppen (I: juvenil; II: adult-zyklierend; III: gravid; IV: post partum) eingeteilt worden sind, Gewebeproben aus definierten Lokalisationen (Ovar, extraovarielle/extrauterine Gefäße, Uterus) zur lichtmikroskopischen Auswertung mittels konventioneller Methoden (H.-E.-Färbung) sowie für Spezialfärbungen (Pikrosiriusrot-Färbung) entnommen. Um mögliche alters- oder graviditätsabhängige Einflüsse auf die Entwicklung der degenerativen Gefäßalterationen aus den verschiedenen Lokalisationen des equinen Genitaltraktes nachweisen zu können, wurden die verschiedenen Lokalisationen bei den adult-zyklierenden Stuten (Untersuchungsgruppe II; n=41) mit Hilfe des Gefäßschädigungsindex (GSI) nach LUDWIG et al. 2001 semiquantitativ verglichen. Zusätzlich kamen an repräsentativen histologischen Schnitten ausgewählter Stuten spezielle immunhistologische Marker (Vimentin, Desmin,  $\alpha$ -Aktin, Elastin, Kollagen-Typ III und Laminin) zur Anwendung, um mögliche morphologisch-funktionelle Zusammenhänge ableiten zu können.

Die histologische Auswertung zeigte bei allen vier Untersuchungsgruppen, dass im Bereich des **ovariellen Stromas** fast ausschließlich die arteriellen Gefäße von massiven degenerativen Veränderungen betroffen waren. Insbesondere die mittelgroßen und großen ovariellen Arterien waren durch primär altersabhängige Ablagerungen kollagener Fasern im Bereich der



Intima und Media gekennzeichnet (sog. "*Alterseffekt*"), die bei alten, multiparen Stuten destruierenden Charakter aufwiesen. Zusätzlich war im Bereich der ovariellen stromalen Arterien eine stark hyperplastische Intima nachweisbar, die durch ein vermehrtes Auftreten von Vimentin- und  $\alpha$ -Aktin-koexprimierenden Zellen (= Myofibroblasten vom  $V^+A^+D^-$ - Typ) bedingt war (= mittel- bis hochgradige hyperplastische Intima- und Mediafibrosen).

Im Gegensatz dazu zeigten die **extraovariellen und extrauterinen Gefäße** (A. ovarica und A. uterina) beide qualitativ ähnliche, die gesamte Gefäßwand betreffende, degenerative Veränderungen in Form von Panfibroelastosen und Panfibrosen, die vom Alter und dem Paritätsstatus abhängig waren. Dabei wiesen die extraovariellen Arterien eine geringfügig stärkere Schädigung auf (zirka  $\frac{1}{2}$  GSI-Grad). Die korrespondierenden Venen (V. ovarica und V. uterina) zeigten, ähnlich wie im Ovar, lediglich dezente Veränderungen (geringgradige Perielastose).

Im Bereich des **Uterus** waren die arteriellen und venösen Gefäße - unabhängig von der Gefäßgröße - von qualitativ und quantitativ ähnlichen degenerativen Alterationen betroffen. Die Gefäße wiesen sowohl im **Endo- als auch im Myometrium** vorwiegend Ablagerungen elastischer Faserelemente im Bereich der gesamten Gefäßwand auf (mittel- bis hochgradige, teils destruierende Panelastosen und Panelastofibrosen), die sich mit zunehmender Anzahl von Trächtigkeiten verstärkten (sog. "*Graviditätseffekt*"). Auffällig war zudem, dass die myometrialen Gefäße geringfügig stärker alteriert waren im Vergleich zu denen des Endometriums.

Die histologischen Ergebnisse zeigen, dass die fibrosierenden Gefäßalterationen (= Ablagerung kollagener Fasern) vom Uterus über die extrauterinen/extraovariellen Gefäße bis zum Ovar progressiv primär altersassoziiert zunehmen. So könnte der histologisch bestimmte endometriale Gefäßstatus in einer klinisch entnommenen Endometriumbiopsie auch dazu genutzt werden, unter Berücksichtigung des Alters der Stute, den histologischen Zustand extraovarieller und stromaler ovarieller Gefäßstrukturen abzuschätzen.

Es ist zu vermuten, dass eine Vielzahl von endogenen und exogenen Insulten (autokrine, parakrine Einflüsse, hämodynamische Fehlbelastungen) sowie das Alter und der ovarielle Zyklus zur Ätiopathogenese der fibrotischen, stark hyperplastischen (= Myofibroblasten vom  $V^+A^+D^-$ - Typ) Veränderungen in den stromalen ovariellen Arterien beitragen. Unter der Annahme, dass diese Gefäßveränderungen auch die Perfusion der nachgeschalteten ovariellen Funktionskörper negativ beeinflussen, könnten sie zu einer Dysfunktion des Ovars (verminderte Ovulationsrate, Corpus-luteum-Insuffizienz) und einer daraus resultierenden, verminderten Trächtigkeitsrate mit möglichen ökonomischen Folgen beitragen.

## 7 Summary

Ines Hasenbein

**Histological and immunohistochemical comparison between ovarian stromal angiopathies and extraovarian, extrauterine and uterine degenerative vessel alterations of the female genital system in the mare.**

**Institute of Pathology of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig**

**Submitted in October 2007**

(103 pages, 27 figures, 31 tables, 267 references, 13 pages appendices)

keywords: (Immuno)-histological comparison; histological characterization of ovarian/extra-ovarian/extrauterine and uterine degenerative angiopathies; mare

The aim of this study was to assess the influence of age and parity on the quality and quantity of ovarian and extraovarian angiopathies in the mare in comparison to the findings in uterine and extrauterine vessels of the female genital system. For this purpose, samples from defined localizations (ovary, extraovarian/extrauterine vessels, uterus) of 60 mares with different reproductional status (juvenile, adult-cycling, gravid, post partum) were obtained for light-microscopical evaluation by conventional methods (Hematoxylin-Eosin-stain) as well as specific histological stainings (Constantine's Picro-Sirius Red-stain). In order to assess possible correlations between the different genital localizations, the arterial and venous lesions from the adult-cycling mares of different age and parity (n=41) were scored semiquantitatively by a "vascular degeneration index" (VDI) as described by Ludwig et al. (2001). In addition, specific immunohistochemical markers (vimentin, desmin, smooth-muscle- $\alpha$ -actin, elastin, collagen-type III und laminin) were used to examine possible correlations between the morphology of the ovarian and extraovarian angiopathies and the functional status of the investigated localization.

The histological evaluation of all four research groups revealed that almost the arterial vessels in the **ovarian stroma** were exclusively affected by substantial degenerative alterations. In particular, the medium sized and large ovarian arteries were primarily characterized by age-dependent deposits of collagenous fibres within the tunica intima and media (so-called "*age-related effect*"), showing destructive lesions in old, multiparous mares. In addition, a distinct hyperplastic intima was visible in the ovarian arteries due to vimentin- and  $\alpha$ -actin-expressing cells (=  $V^+A^+D^-$ -myofibroblasts) [= moderate to severe hyperplastic intima- and media-fibrosis].

In contrast to the intimal lesions of the ovary, the **extraovarian and extrauterine vessels** (A. ovarica and A. uterina) were both qualitatively characterized by similar, the entire vessel wall concerning alterations (**panfibroelastosis** and **panfibrosis**) which were related to age and parity. It could be recognized that the extraovarian alterations were slightly more intense (about ½ VDI-degree) than those of the extrauterine arteries. The corresponding veins (V. ovarica and V. uterina) revealed, similar to the ovary, only small amounts of elastic fibres in the adventitia (slight perielastosis).

Concerning the **uterine (= endometrial and myometrial)** vessels, it could be demonstrated that - independently of the vessel size - the arterial and venous vessels showed both identical lesions, taking quality and quantity of the alterations into account. Uterine (= endometrial and myometrial) vessels were predominantly characterized by the occurrence of elastic fibres within the entire vessel wall (moderate to severe, partially destructive **panelastosis** and **panelastofibrosis**), following multiple pregnancies (so called "*parity-effect*"). It was remarkable, that the myometrial vessels were more intensely altered by fibrotic deposits than the arteries and veins of the endometrium.

The histological results of this study illustrate that a progressive increase of fibrosing (= deposits of collagenous fibres) angiopathies occurs from the uterus via the extrauterine and extraovarian vessels up to the ovary, which are primarily correlated with increasing age. This suggests that a certain endometrial vessel status in an clinically relevant endometrial biopsy, may allow conclusions on the histological condition of extraovarian and ovarian stromal vessels, if the age of the mare is taken into consideration.

Regarding the etiology and pathogenesis of the stromal ovarian angiopathies (based on the immunohistologically recognized V<sup>+</sup>A<sup>+</sup>D<sup>-</sup>-myofibroblasts) it can be hypothesized, that a multiplicity of endogenous and exogenous insults (autocrine, paracrine and haemodynamic influences) as well as the age of the mare and the hormonal status by the ovarian cycle contribute to the development of the stromal, hyperplastic angiopathies of the ovary. Assuming that these vessel alterations decrease the blood supply of the ovary, subsequent functional disorders (decreased ovulation rate, insufficiency of the corpora lutea) resulting in a decreased pregnancy rate with possible economic consequences are imaginable.

## 8 Literaturverzeichnis

Albert EN, Bhussry BR. The effects of multiple pregnancies and age on the elastic tissue of uterine arteries in the guinea pig. *Am J Anat.* 1967;121:259-69.

Allen WR. Luteal deficiency and embryo mortality in the mare. *Reprod Domest Anim.* 2001;36:121-31.

Arthur GH. An analysis of the reproductive function of mares based on post-mortem examination. *Vet Rec.* 1958;70:682-6.

Assoian RK, Sporn MB. Type beta transforming growth factor in human platelets: release during platelet degranulation and action on vascular smooth muscle cells. *J Cell Biol.* 1986;102:1217-23.

Augustin HG. Vascular morphogenesis in the ovary. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2000;14:867-82.

Aupperle H, Özgen S, Schoon HA, Schoon D, Hoppen HO, Sieme H. Cyclical endometrial steroid hormone receptor expression and proliferation intensity in the mare. *Equine Vet J.* 2000;32:228-32.

Bader H. Importance of the gerontology of elastic arteries in the development of essential hypertension. *Clin Physiol Biochem.* 1983;1:36-56.

Bader H, Kremer H, Vogt C, Schoon HA, Beier-Hellwig K. Investigations on the protein pattern of equine uterine secretions as functional parameter of the endometrium. *Pferdeheilkunde.* 1997;13:544.

Badid C, Mounier N, Costa AM, Desmoulière A. Role of myofibroblasts during normal tissue repair and excessive scarring: interest of their assessment in nephropathies. *Histol Histopathol.* 2000;15:269-80.

Ball RH, Picus D, Goyal RK, Wilson DB, Rader JS. Ovarian artery pseudoaneurysm: diagnosis by Doppler sonography and treatment with transcatheter embolization. *J Ultrasound Med.* 1995;14:250-2.

Bartmann CP, Schöning A, Brickwedel I, Ohnesorge B, Klug E. Hysteroskopie und minimal invasive endouterine Chirurgie bei der Stute. *Pferdeheilkunde.* 1997;13:474-82.

Bayes-Genis A, Campbell JH, Carlson PJ, Holmes DR, Jr., Schwartz RS. Macrophages, myofibroblasts and neointimal hyperplasia after coronary artery injury and repair. *Atherosclerosis.* 2002;163:89-98.

Bendeck MP, Keeley F, Langille BL. Perinatal accumulation of arterial wall constituents: relation to hemodynamic changes at birth. *Am J Physiol.* 1994;267:H2268-H2279.

Bergmann RV, Kenney RM. Representativeness of an uterine biopsy in the mare. Proc 21st Ann Meet Am Assoc Eq Pract. 1975;21:355-62.

Blaich U, Petzold S, Bartmann CP, Lorber K, Schoon HA, Raila G. Doppler ultrasonographic studies of the uterine blood flow in mares. Pferdeheilkunde. 1999;15:547-50.

Blaich U, Bartmann CP, Schoon D, Klug E, Schoon HA. Comparative Doppler sonographic and pathohistological investigations of the uterine artery in the horse. Pferdeheilkunde. 2001;17:687.

Bochaton-Piallat ML, Ropraz P, Gabbiani F, Gabbiani G. Phenotypic heterogeneity of rat arterial smooth muscle cell clones. Implications for the development of experimental intimal thickening. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1996;16:815-20.

Bollwein H, Maierl J, Mayer R, Stolla R. Transrectal color Doppler sonography of the A. uterina in cyclic mares. Theriogenology. 1998;49:1483-8.

Bollwein H, Woschee I, Stolla R. Uterine Durchblutung während der Gravidität der Stute. Pferdeheilkunde. 1999;15:595-8.

Bollwein H, Meyer HH, Maierl J, Weber F, Baumgartner U, Stolla R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. Theriogenology. 2000;53:1541-52.

Bollwein H, Baumgartner U, Stolla R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy. Theriogenology. 2002a;57:2053-61.

Bollwein H, Mayer R, Weber F, Stolla R. Luteal blood flow during the estrous cycle in mares. Theriogenology. 2002b;57:2043-51.

Bollwein H, Weber F, Kolberg B, Stolla R. Uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. Theriogenology. 2002c;57:2129-38.

Booth RF, Martin JF, Honey AC, Hassall DG, Beesley JE, Moncada S. Rapid development of atherosclerotic lesions in the rabbit carotid artery induced by perivascular manipulation. Atherosclerosis. 1989;76:257-68.

Borden P, Heller RA. Transcriptional control of matrix metalloproteinases and the tissue inhibitors of matrix metalloproteinases. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 1997;7:159-78.

Bracher V, Gerstenberg S, Mathias S, Allen WR. Influence of age and parity on the equine endometrium. Pferdeheilkunde. 1997;13:549.

Bruce NW, Moor RM. Capillary blood flow to ovarian follicles, stroma and corpora lutea of anesthetized sheep. J Reprod Fertil. 1976;46:299-304.

Bucher O, Wartenberg H. Mikroskopische Anatomie - Kreislaufapparat. In: Bucher O, Wartenberg H, editors. Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. 11. Aufl. Bern, Stuttgart, Toronto: Huber Verlag; 1989. p. 325-47.

Buss E. Blut- und Lymphgefäße. In: Remmele W, editor. Pathologie Band 1. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag; 1984. p. 181-273.

Campbell GR, Ryan GB. Origin of myofibroblasts in the avascular capsule around free-floating intraperitoneal blood clots. Pathology. 1983;15:253-64.

Campbell S, Pearce JM, Hackett G, Cohen-Overbeek T, Hernandez C. Qualitative assessment of uteroplacental blood flow: early screening test for high-risk pregnancies. Obstet Gynecol. 1986;68:649-53.

Cancilla PA, Baker RN, Pollock PS, Frommes SP. The reaction of pericytes of the central nervous system to exogenous protein. Lab Invest. 1972;26:376-83.

Chervu A, Moore WS. An overview of intimal hyperplasia. Surg Gynecol Obstet. 1990;171:433-47.

Christenson LK, Stouffer RL. Follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone / chorionic gonadotropin stimulation of vascular endothelial growth factor production by macaque granulosa cells from pre- and periovulatory follicles. J Clin Endocrinol Metab. 1997;82: 2135-42.

Constantine MS. A combined tissue stain for the selective staining of collagen, elastic fibers and acidic carbonhydrates. J Invest Dermatol. 1969;52:353-6.

Dahme E. Blutgefäße. In: Dahme E, Weiss E, editors. Grundriss der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. 5. Aufl. Stuttgart: Enke Verlag; 1999. p. 27-44.

Darland DC, Massingham LJ, Smith SR, Piek E, Saint-Geniez M, D'Amore PA. Pericyte production of cell-associated VEGF is differentiation-dependent and is associated with endothelial survival. Dev Biol. 2003;264:275-88.

De Oliveira AC, Rosenbruch M, Schulz LC. Intimal asteroid bodies in horses: light and electron microscopic observations. Vet Pathol. 1985;22:226-31.

De Oliveira F. Pericytes in diabetic retinopathy. Br J Ophthalmol. 1966;50:134-43.

Del Campo CH, Ginther OJ. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: horses, sheep and swine. Am J Vet Res. 1973;34:305-16.

Dellmann HD, Venable JH. Cardiovascular system. In: Dellmann HD, Brown EM, editors. Textbook of veterinary histology. Philadelphia: Verlag Lea u. Febinger; 1987. p. 145-63.

Desmoulière A, Gabbiani G. Smooth muscle cell and fibroblast biological and functional features: Similarities and differences. In: Schwartz SM, Mecham RP, editors. The vascular smooth muscle cell. San Diego: Academic Press; 1995. p. 329-59.

Döcke F. Keimdrüsen. In: Döcke F, editor. Veterinärmedizinische Endokrinologie. 3. Aufl. Jena: Fischer Verlag; 1994. p. 399-498.

Dos Santos-Ferreira A, Motta P, Esperanca-Pina JA, DiDio LJ, Cherney DD. Arterial microcirculation of the ovary. *Int Surg.* 1974;59:100-2.

Drake CJ, Hungerford JE, Little CD. Morphogenesis of the first blood vessels. *Ann N Y Acad Sci.* 1998;857:155-79.

Driancourt MA, Paris A, Roux C, Mariana JC, Palmer E. Ovarian follicular populations in pony and saddle-type mares. *Reprod Nutr Dev.* 1982;22:1035-47.

Drommer W. Kreislauforgane. In: Schulz LC, editor. Pathologie der Haustiere. Jena: Fischer Verlag; 1991. p. 21-91.

Durmowicz AG, Parks WC, Hyde DM, Mecham RP, Stenmark KR. Persistence, re-expression and induction of pulmonary arterial fibronectin, tropoelastin and type I procollagen mRNA expression in neonatal hypoxic pulmonary hypertension. *Am J Pathol.* 1994;145:1411-20.

Ellenberger C, Aupperle H, Bartmann CP, Hoppen HO, Schoon D, Schoon HA. Endometrial maldifferentiation caused by ovarian disorders in the mare - morphological and immunohistochemical results. *Theriogenology.* 2002;58:499-502.

Ellenberger C. Funktionelle Pathologie des equinen Ovars und daraus resultierende endometriale Differenzierungsstörungen [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2003.

Engmann L, Sladkevicius P, Agrawal R, Bekir JS, Campbell S, Tan SL. Value of ovarian stromal blood flow velocity measurement after pituitary suppression in the prediction of ovarian responsiveness and outcome of in vitro fertilization treatment. *Fertil Steril.* 1999;71:22-9.

Eyden BP, Ponting J, Davies H, Bartley C, Torgersen E. Defining the myofibroblast: normal tissues, with special reference to the stromal cells of Wharton's jelly in human umbilical cord. *J Submicrosc Cytol Pathol.* 1994;26:347-55.

Faia KL, Davis WP, Marone AJ, Foxall TL. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in hamster aortic atherosclerosis: correlation with in-situ zymography. *Atherosclerosis.* 2002;160:325-37.

Faury G. Function-structure relationship of elastic arteries in evolution: from microfibrils to elastin and elastic fibres. *Pathol Biol (Paris).* 2001;49:310-25.

- Ferreira-Dias GM, Mateus L. The equine cyclic corpus luteum: microvascularisation, luteal cells characterization and function. *Pferdeheilkunde*. 2003;6:585-8.
- Fischer GM. In vivo effects of estradiol on collagen and elastin dynamics in rat aorta. *Endocrinology*. 1972;91:1227-32.
- Fischer GM, Cherian K, Swain ML. Increased synthesis of aortic collagen and elastin in experimental atherosclerosis. Inhibition by contraceptive steroids. *Atherosclerosis*. 1981;39:463-7.
- Fischer GM, Swain ML. Influence of contraceptive and other sex steroids on aortic collagen and elastin. *Exp Mol Pathol*. 1980;33:15-24.
- Fischer N, Staubesand J. [Ultrastructure of collagen fibrils in normal and altered blood vessels]. *Acta Anat (Basel)*. 1982;114:125-45.
- Forsman AD, McCormack JT. Microcorrosion casts of hamster luteal and follicular vasculature throughout the estrous cycle. *Anat Rec*. 1992;233:515-20.
- Foster J, Rich CB, Florini JR. Insulin-like growth factor I, somatomedin C induces the synthesis of tropoelastin in aortic tissue. *Coll Relat Res*. 1987;7:161-9.
- Friederici HH. The early response of uterine capillaries to estrogen stimulation. An electron microscopic study. *Lab Invest*. 1967;17:322-33.
- Gabbiani G, Kocher O, Bloom WS, Vandekerckhove J, Weber K. Actin expression in smooth muscle cells of rat aortic intimal thickening in human atheromatous plaque and cultured rat aortic media. *J Clin Invest*. 1984;148-52.
- Gallagher PJ. Blood vessels. In: Sternberg SS, editor. *Histology for pathologists*. New York: Verlag Raven Press, Ltd.; 1992. p. 195-213.
- Gao PJ, Li Y, Sun AJ, Liu JJ, Ji KD, Zhang YZ. Differentiation of vascular myofibroblasts induced by transforming growth factor-beta 1 requires the involvement of protein kinase C. *J Mol Cell Cardiol*. 2003;35:1105-12.
- Gay S, Martin GR, Muller PK, Timpl R, Kuhn K. Simultaneous synthesis of types I and III collagen by fibroblasts in culture. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1976a;73:4037-40.
- Gay S, Muller PK, Meigel WN, Kuhn K. [The polymorphism of collagen. New viewpoints on the structure and function of connective tissue]. *Hautarzt*. 1976b;27:196-205.
- Gedigk P, Totovic V. Zell- und Gewebsschäden. In: Eder M, Gedigk P, editors. *Allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie*. 33. Aufl. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag; 1990. p. 65-7.
- Ginther OJ. Mobility of the early equine conceptus. *Theriogenology*. 1983;19:603-11.



- Ginther OJ. Reproductive anatomy. In: Ginther OJ, editor. Reproductive biology of the mare. 2. Aufl. Wisconsin: Verlag Equiservices; 1992. p. 1-40.
- Ginther OJ, Garcia MC, Squires EL, Steffenhagen WP. Anatomy of vasculature of uterus and ovaries in the mare. *Am J Vet Res.* 1972;33:1561-8.
- Glock JL, Brumsted JR. Color flow pulsed Doppler ultrasound in diagnosing luteal phase defect. *Fertil Steril.* 1995;64:500-4.
- Gomori G. A new stain for elastic tissue. *Am J Clin Pathol.* 1950;20:665.
- Gonzalez-Angulo A, Hernandez-Jauregui P, Marquez-Monter H. Fine structure of gonads of the fetus of the horse (*Equus caballus*). *Am J Vet Res.* 1971;32:1665-76.
- Göpel C, Schultka R, Schuppan D. [Age-dependent distribution of collagen and glycoproteins in the blood vessels of the human uterine tube]. *Anat Anz.* 1997;179:83-8.
- Grant DS, Kleinman HK. Regulation of capillary formation by laminin and other components of the extracellular matrix. *EXS.* 1997;79:317-33.
- Grecchi R, Mariano M, Saliba AM, Zezza Neto L. Ceroid pigment in ovary of mare. *Rev Bras Biol.* 1966;26:361-6.
- Greenwald GS. Temporal and topographic changes in DNA synthesis after induced follicular atresia. *Growth Factors.* 1989;12:131-44.
- Grüninger B. Zur Pathogenese von Angiopathien im Endometrium der Stute [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1996.
- Grüninger B, Schoon HA, Schoon D, Menger S, Klug E. Incidence and morphology of endometrial angiopathies in mares in relationship to age and parity. *J Comp Pathol.* 1998;119:293-309.
- Hadas-Halpern I, Patlas M, Fisher D. Postpartum ovarian vein thrombophlebitis: sonographic diagnosis. *Abdom Imaging.* 2002;27:93-5.
- Häfner I, Schoon HA, Schoon D, Aupperle H. Glanduläre Differenzierungsstörungen im Endometrium der Stute. *Pferdeheilkunde.* 2001;17:103-10.
- Hammond J, Wodzicki K. Anatomical and histological changes during the estrous cycle in the mare. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1941;130:1-23.
- Hay MF, Allen WR. An ultrastructural and histochemical study of the interstitial cells in the gonads of the fetal horse. *J Reprod Fertil Suppl.* 1975;557-61.
- Hees H, König HE, Hees I. Angioarchitektonische Untersuchungen am Blutgefäßsystem der Funktionsgebilde im Ovar der Stute. *Fertility.* 1988;4:30-4.

Hein K. Morpho-funktionelle Untersuchungen an der Cervix uteri und am Endometrium der Stute im Verlauf des Zyklus. [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2000.

Hirschberger J. Herstellung und Charakterisierung monoklonaler Antikörper gegen T-Lymphozyten des Huhnes [Dissertation med. vet]. Giessen: Univ. Gießen; 1987.

Hoffmann B. Endokrinologie der Hochträchtigkeit während des Partus und im Puerperium. In: Richter J, Götze R, editors. Tiergeburtshilfe. 4. Aufl. Berlin, Hamburg: Parey Verlag; 1993. p. 111-20.

Hoffmann Ch, Bazer FW, Klug J, Allen WR, Aupperle H, Ellenberger C. Morpho-functional studies regarding the pathogenesis of the equine endometrosis with special emphasis on uterine secretions-preliminary studies. *Pferdeheilkunde*. 2003;19:666-9.

Hohenhaus MU, Lehmann B. [Ovarian structure and function in the mare from the clinical viewpoint with special regard to ultrasonography]. *Tierärztl Prax*. 1990;18:155-63.

Hornebeck W, Robert L. Interactions between elastic fibers and cells. *Front Matrix Biol*. 1986;11:58-77.

Hosoda Y, Kawano K, Yamasawa F, Ishii T, Shibata T, Inayama S. Age-dependent changes of collagen and elastin content in human aorta and pulmonary artery. *Angiology*. 1984;35:615-21.

Hossain MI, O'Shea JD. The vascular anatomy of the ovary and the relative contribution of the ovarian and uterine arteries to the blood supply of the ovary in the guinea-pig. *J Anat*. 1983;137 (Pt 3):457-66.

Hugel T. Über die Sklerosen der Uterinarterien trächtig gewesener Rinder. [Diss med. vet]. Berlin: Tierärztl. Hochsch. Berlin; 1925.

Ignotz RA, Endo T, Massague J. Regulation fibronectin and type I collagen mRNA levels by TGF $\beta$ . *J Biol Chem*. 1987;262:6443-6.

Irey NS, Norris HJ. Intimal vascular lesions associated with female reproductive steroids. *Arch Pathol*. 1973;96:227-34.

Jiang JY, Macchiarelli G, Miyabayashi K, Sato E. Follicular microvasculature in the porcine ovary. *Cell Tissue Res*. 2002;310:93-101.

Jones TC, Zook BC. Aging changes in the vascular system of animals. *Ann N Y Acad Sci*. 1965;127:671-84.

Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J*. 1979;11:447-55.

- Junqueira LC, Montes GS, Sanchez EM. The influence of tissue section thickness on the study of collagen by the Picrosirius-polarization method. *Histochemistry*. 1982;74:153-6.
- Kadhim KK, Khamas WA, Al-Shaikhly A. Histomorphological observations on the blood supply of the ovaries of the she-camel. *J Camel Pract Research*. 1998;5:7-11.
- Kamiya S, Daigo M. Effect of pregnancy on gravid sclerosis of bovine uterine arteries. *Nippon Juigaku Zasshi*. 1989;51:1179-84.
- Kanzaki H, Okamura H, Okuda Y, Takenaka A, Morimoto K, Nishimura T. Scanning electron microscopic study of rabbit ovarian follicle microvasculature using resin injection-corrosion casts. *J Anat*. 1982;134 (Pt 4):697-704.
- Karck U, Keck C. Der weibliche Zyklus. *Ther Umsch*. 2002;59:153-8.
- Karnik SK, Brooke BS, Bayes-Genis A, Sorensen L, Wythe JD, Schwartz RS. A critical role for elastin signaling in vascular morphogenesis and disease. *Development*. 2003;130:411-23.
- Kaya E, Utas C, Balkanli S, Basbug M, Onursever A. Isolated ovarian polyarteritis nodosa. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1994;73:736-8.
- Kelly CJ, Speirs A, Gould GW, Petrie JR, Lyall H, Connell JM. Altered vascular function in young women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:742-6.
- Kenney RM. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *J Am Vet Med Assoc*. 1978;172:241-62.
- Kenney RM, Condon W, Ganjam VK, Channing C. Morphological and biochemical correlates of equine ovarian follicles as a function of their state of viability or atresia. *J Reprod Fertil Suppl*. 1979;Suppl. 27:163-71.
- Kenney RM, Doig PA. Equine endometrial biopsy. In: Morrow DA, editor. *Current therapy in theriogenology*. 2. Aufl. Philadelphia: Saunders Verlag; 1986. p. 723-9.
- Kersten F. Klinische, histologische und zytologische Untersuchungen im Puerperium der Stute sowie ein Beitrag zur Kyematopathologie unter besonderer Berücksichtigung der Placenta fetalidis [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2000.
- Kielty CM, Sherratt MJ, Shuttleworth CA. Elastic fibres. *J Cell Sci*. 2002;115:2817-28.
- Kim-Schulze S, McGowan KA, Hubchak SC. Expression of estrogen receptor by human coronary artery and umbilical vein endothelial cells. *Circulation*. 1996;94:1402-7.
- Knospe C, Budras KD. [Prenatal development of the horse ovary]. *Anat Histol Embryol*. 1992;21:306-13.

- Kocher O, Hüttner I, Gabbiani G. Atherosclerosis: Cellular aspects. In: Camilleri J-P, editor. Diseases of the arterial wall. Heidelberg, New York: Springer Verlag; 1989. p. 167-79.
- König HE. Zur Anatomie des Eierstockes der Stute. Acta Vet Brno. 1995;64:13-6.
- König HE, Amselgruber W, Rüsse I. [Microcirculation in the follicles and corpora lutea of the bovine ovary - a corrosion anatomical study]. Tierärztl Prax. 1988;16:25-31.
- König HE, Ries E. Korrosionsanatomische Untersuchungen am Blutgefäßsystem des Eierstockes der Stute. Tierärztl Prax. 1987;15:181-4.
- Kriesten H. Zur prognostischen Bedeutung von Angiopathien im Rahmen der Kategorisierung von Endometriumbiopsien bei der Stute [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1995.
- Kuivaniemi H, Tromp G, Prockop DJ. Mutations in fibrillar collagens (types I, II, III and XI), fibril-associated collagen (type IX) and network-forming collagen (type X) cause a spectrum of diseases of bone, cartilage and blood vessels. Hum Mutat. 1997;9:300-15.
- Lansing W. Pathologisch-anatomische Untersuchungen über die sogenannte Graviditätssklerose der Uterusgefäße beim Schwein [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1926.
- Leidl W, Kaspar B, Kahn W. [Endometrial cysts in the mare. 2. Clinical studies: occurrence and significance]. Tierärztl Prax. 1987;15:281-9.
- Leidl S, Bollwein H, Stolla R. Uterine blood flow during the puerperium in cows. In: Glatzel PS, Reif S, Lange A, Rodriguez-Martinez H, editors. 33. DVG-Tagung über Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung; 2000 Feb 17; Berlin, Bundesrepublik Deutschland. Berlin: Blackwell Wissenschafts-Verlag GmbH; 2000. p. 15.
- Li G, Chen SJ, Oparil S, Chen YF, Thompson JA. Direct in vivo evidence demonstrating neointimal migration of adventitial fibroblasts after balloon injury of rat carotid arteries. Circulation. 2000;101:1362-5.
- Liebich HG. Kreislaufsystem. In: Liebich HG, editor. Funktionelle Histologie der Haus-säugetiere. 4. Aufl. Stuttgart, New York: Schattauer Verlag; 2003a. p. 129-41.
- Liebich HG. Weibliche Geschlechtsorgane (Organa genitalia feminina). In: Liebich HG, editor. Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. 4. Aufl. Stuttgart, New York: Schattauer Verlag; 2003b. p. 293-309.
- Linthorst G. A new progesteron-estrogen combination for gynecological therapy and contraception. Int J Fertil. 1966;2:35-45.
- Liu JM, Davidson JM. The elastogenic effect of recombinant transforming growth factor-beta on porcine aortic smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun. 1988;154:895-901.

Loeven WA, Baldwin HM. Elastolytic enzymes and elastin in the aging rat. *Gerontologia*. 1971;17:170-82.

Lofstedt R. Haemorrhage associated with pregnancy. *Equine Vet Educ*. 1994;6:138-41.

Löning T. Gefäße: Anatomie und Pathologie. In: Seifert G, editor. *Pathologie der weiblichen Genitalorgane III*. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag; 2001. p. 705-12.

Ludwig S, Schoon D, Aupperle H, Von Reischwitz A, Schoon HA. Angiopathies in the equine endometrial biopsy - a marker for extrauterine vascular lesions? *Pferdeheilkunde*. 2001;17:608-14.

Ludwig S. Angiopathien im Genitalbereich von Zuchtstuten - Relevanz mittels Endometriumbiopsie diagnostizierbarer Alterationen. [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2003.

Lunenfeld E, Schwartz I, Meizner I, Potashnik G, Glezerman M. Intraovarian blood flow during spontaneous and stimulated cycles. *Hum Reprod*. 1996;11:2481-3.

Macchiarelli G, Nottola SA, Vizza E, Kikuta A, Murakami T, Motta PM. Ovarian microvasculature in normal and hCG stimulated rabbits. A study of vascular corrosion casts with particular regard to the interstitium. *J Submicrosc Cytol Pathol*. 1991;23:391-5.

Macchiarelli G, Nottola SA, Vizza E, Familiari G, Kikuta A, Murakami T. Microvasculature of growing and atretic follicles in the rabbit ovary: a SEM study of corrosion casts. *Arch Histol Cytol*. 1993;56:1-12.

Macchiarelli G, Nottola SA, Vizza E, Correr S, Motta PM. Changes of ovarian microvasculature in hCG stimulated rabbits. A scanning electron microscopic study of corrosion casts. *Ital J Anat Embryol*. 1995;100 Suppl 1:469-77.

Maeng M, Mertz H, Nielsen S, Van Eys GJ, Rasmussen K, Espersen GT. Adventitial myofibroblasts play no major role in neointima formation after angioplasty. *Scand Cardiovasc J*. 2003;37:34-42.

Magness RR, Christenson RK, Ford SP. Ovarian blood flow throughout the estrous cycle and early pregnancy in sows. *Biol Reprod*. 1983;28:1090-6.

Maher JA. Morphologic and histochemical changes in postpartum uterine blood vessels. *AMA Arch Pathol*. 1959;67:175-80.

Majack RA, Majesky MW, Goodman LV. Role of PDGF-A expression in the control of vascular smooth muscle cell growth by transforming growth factor-beta. *J Cell Biol*. 1990;111:239-47.

Manabe Y, Yoshioka K, Yanada J. Spontaneous rupture of a dissection of the left ovarian artery. *J Med Invest*. 2002;49:182-5.

- Mayer R, Bollwein H, Stolla R. Uterine blood flow during the estrous and early pregnancy in mares studied by transrectal colour Doppler sonography. *Reprod Domest Anim.* 1998;33:71.
- Mayne R. Collagenous proteins of blood vessels. *Arteriosclerosis.* 1986;6:585-93.
- Mc Entee K. The ovary. In: Mc Entee K, editor. *Reproductive pathology of domestic mammals.* San Diego, California: Academic Press Inc.; 1990. p. 31-64.
- Mecham RP, Davis EC. Elastic fiber structure and assembly. In: Yuenchenco PD, Birk DE, Mecham RP, editors. *Extracellular matrix assembly and structure.* Academic press; 1994. p. 281-314.
- Merkt H, Deegen E, Dieckmann M, Bader H, Gremmes S, Merkt JC. Zysten in der Gebärmutterwand von Stuten sowie Behandlungsversuche unter hysteroskopischer Kontrolle. *Pferdeheilkunde.* 1991;7:251-6.
- Michel G. Die Entwicklung des Harn- und Geschlechtsapparates. In: Michel G, editor. *Kompendium der Embryologie der Haustiere.* 4. Aufl. Jena: Fischer Verlag; 1986. p. 211-42.
- Midwood KS, Schwarzbauer JE. Elastic fibers: building bridges between cells and their matrix. *Curr Biol.* 2002;12:R279-R281.
- Miyazaki H, Hayashi K, Hasegawa Y. Tensile properties of fibroblasts and vascular smooth muscle cells. *Biorheology.* 2003;40:207-12.
- Moore HC. Marfan syndrome, dissecting aneurysm of the aorta and pregnancy. *J Clin Pathol.* 1965;18:277.
- Moulin V. Growth factors in skin wound healing. *Eur J Cell Biol.* 1995;68:1-7.
- Mouthon L, Garcia de la Pena-Lefebvre P, Chanseaud Y, Tamby MC, Boissier MC, Guillevin L. [Pathogenesis of systemic scleroderma: immunological aspects]. *Ann Med Interne (Paris).* 2002;153:167-78.
- Murakami T, Ikebuchi Y, Ohtsuka A, Kikuta A, Taguchi T, Ohtani O. The blood vascular wreath of rat ovarian follicle, with special reference to its changes in ovulation and luteinization: a scanning electron microscopic study of corrosion casts. *Arch Histol Cytol.* 1988;51:299-313.
- Murata K, Motayama T, Kotake C. Collagen types in various layers of the human aorta and their changes with the atherosclerotic process. *Atherosclerosis.* 1986;60:251-62.
- Myllyharju J, Kivirikko KI. Collagens and collagen-related diseases. *Ann Med.* 2001;33:7-21.
- Niederhoffer N, Lartaud-Idjouadiene I, Giummelly P, Duvivier C, Peslin R, Atkinson J. Calcification of medial elastic fibers and aortic elasticity. *Hypertension.* 1997;29:999-1006.

- Niemann H. Extrazelluläre Matrix. In: Wiesner E, Ribbeck R, editors. Lexikon der Veterinärmedizin. 4. Aufl. Stuttgart: Enke Verlag; 2000. p. 915.
- Nili N, Zhang M, Strauss BH, Bendeck MP. Biochemical analysis of collagen and elastin synthesis in the balloon injured rat carotid artery. *Cardiovasc Pathol*. 2002;11:272-6.
- Nilsson J. Smooth muscle cells in the atherosclerotic process. *Acta Med Scand Suppl*. 1987;715:25-31.
- Nishida T, Seki M, Mochizuki K, Seta S. Scanning electron microscopic observations on the microvascular architecture of the ovarian follicles in domestic fowl. *Nippon Juigaku Zasshi*. 1977;39:347-52.
- Niswender GD, Moore RT, Akbar AM, Nett TM, Diekman MA. Flow of blood to the ovaries of ewes throughout the estrous cycle. *Biol Reprod*. 1975;13:381-8.
- Nottola SA, Macchiarelli G, Motta PM. The angioarchitecture of estrous, pseudopregnant and pregnant rabbit ovary as seen by scanning electron microscopy of vascular corrosion casts. *Cell Tissue Res*. 1997;288:353-63.
- Oh SJ, Kurz H, Christ B, Wilting J. Platelet-derived growth factor-B induces transformation of fibrocytes into spindle-shaped myofibroblasts in vivo. *Histochem Cell Biol*. 1998;109:349-57.
- Okamoto E, Couse T, De Leon H, Vinten-Johansen J, Goodman RB, Scott NA. Perivascular inflammation after balloon angioplasty of porcine coronary arteries. *Circulation*. 2001;104:2228-35.
- Orlidge A, D'Amore PA. Inhibition of capillary endothelial cell growth by pericytes and smooth muscle cells. *J Cell Biol*. 1987;105:1455-62.
- Özgen S, Schoon HA, Aupperle H, Sieme H, Klug E. Etiopathogenesis of the equine intra-uterine fluid accumulation. *Pferdeheilkunde*. 2002;18:594-9.
- Pankow R. Graviditäts-, Menstruations- und Ovulationssklerose der Uterus- und Ovarialgefäße [Dissertation med. vet]. Marburg: Univ. Marburg; 1906.
- Pasquali-Ronchetti I, Baccarani-Conti M. Elastic fiber during development and aging. *Microsc Res Tech*. 1997;38:428-35.
- Patel S, Shi Y, Niculescu R, Chung EH, Martin JL, Zalewski A. Characteristics of coronary smooth muscle cells and adventitial fibroblasts. *Circulation*. 2000;101:524-32.
- Plate WP. Ovarian changes after long term oral contraception. *Acta Endocrinol*. 1967;55:71-7.

- Plendl J. Angiogenesis and vascular regression in the ovary. *Anat Histol Embryol.* 2000;29:257-66.
- Poulhès J, Gaubert J. Les veines de l'ovaire. *CR Ass Anat.* 1954;41:525-30.
- Preissner KT. Extrazelluläre Matrix: Aufbau, Funktion, Diagnostik. *Diagnose & Labor.* 1994;44:165-76.
- Prophet EB, Mills B, Arrington JB. Armed Forced Institute of Pathology. Laboratory methods in histochemistry. In: Armed Forced Institute of Pathology (AFIP), editor. Washington D.C.: 1982.
- Qiu HY, Valtier B, Struyker-Boudier HA, Levy BI. Mechanical and contractile properties of in situ localized mesenteric arteries in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 1995;33:159-70.
- Raila G. Zur Pathogenese der Endometrose der Stute - Morphologisch-funktionelle Untersuchungen [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2000.
- Raines EW. The extracellular matrix can regulate vascular cell migration, proliferation and survival: relationships to vascular disease. *Int J Exp Pathol.* 2000;81:173-82.
- Ratcliffe KE, Anthony FW, Richardson MC, Stones RW. Morphology and functional characteristics of human ovarian microvascular endothelium. *Hum Reprod.* 1999;14:1549-54.
- Reidy MA. A reassessment of endothelial injury and arterial lesion formation. *Lab Invest.* 1985;53:513-20.
- Resnick N, Collins T, Atkinson W, Bonthron DT, Dewey CF, Jr., Gimbrone MA, Jr. Platelet-derived growth factor B chain promoter contains a cis-acting fluid shear-stress-responsive element. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90:4591-5.
- Rey FE, Pagano PJ. The reactive adventitia: fibroblast oxidase in vascular function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1962-71.
- Ricketts SW, Alonso S. The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease. *Equine Vet J.* 1991;23:189-92.
- Riede UN, Ihling Ch, Schaefer HE. Kardiovaskuläres System. In: Riede UN, Schaefer HE, editors. *Allgemeine und spezielle Pathologie.* Stuttgart: Thieme Verlag; 1989. p. 436-63.
- Robert L. [Biology of aging]. *Rev Prat.* 1993;43:2104-11.
- Robert L, Labat-Robert L, Hornebeck W. Aging and Arteriosclerosis. *Atheroscler Rev.* 1986;14:143-69.



- Rodriguez-Garcia JL, Montalban C, Zapatero A, Saban J, Capote L. Giant-cell arteritis of the ovarian arteries with associated temporal arteritis. *Postgrad Med J.* 1992;68:985-6.
- Romeis B. Nachweis anorganischer Substanzen. In: Böck P, editor. *Mikroskopische Technik.* 17. Aufl. München, Wien, Baltimore: Urban und Schwarzenberg Verlag; 1989. p. 425.
- Rooney JR. Ruptured aneurysm of the uterine artery. *Mod Vet Pract.* 1979;60:316-7.
- Rooney JR, Robertson JL. Female reproductive system. In: Rooney JR, Robertson JL, editors. *Equine pathology.* Iowa: Iowa State University Press / Ames; 1996. p. 233-49.
- Rosati P, Pelagalli GV. [Vascular dynamics of the ovary in the development of the ovarian follicle and corpus luteum. Research in *Bos taurus*]. *Acta Med Vet (Napoli).* 1968;14:273-303.
- Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science.* 1973;180:1332-9.
- Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis. *N Engl J Med.* 1976;259:369, 420-377, 425.
- Rüsse I. Harn- und Geschlechtsorgane. In: Rüsse I, Sinowatz F, editors. *Lehrbuch der Embryologie der Haustiere.* Berlin, Hamburg: Parey Verlag; 1991. p. 304-34.
- Rüsse I, Grunert E. Die wachsende Frucht. In: Richter J, Götze R, editors. *Tiergeburtshilfe.* 4. Aufl. Berlin, Hamburg: Parey Verlag; 1993. p. 29-55.
- Sappino AP, Schürch W, Gabbiani G. Differentiation repertoire of fibroblastic cells: expression of cytoskeletal proteins as marker of phenotypic modulations. *Lab Invest.* 1990;63:144-61.
- Sato K, Yomogida K, Wada T, Yorihuzi T, Nishimune Y, Hosokawa N. Type XXVI collagen, a new member of the collagen family, is specifically expressed in the testis and ovary. *J Biol Chem.* 2002;277:37678-84.
- Sauramo H. Histology and function of the ovary from the embryo-period to the fertile age. *Acta Obst Gyn Suppl.* 1954;33:1-163.
- Saward L, Zahradka P. Coronary artery smooth muscle in culture: migration of heterogeneous cell populations from vessel wall. *Mol Cell Biochem.* 1997;176:53-9.
- Schnorr B, Kressin M. Entwicklung der Geschlechtsorgane. In: Schnorr B, Kressin M, editors. *Embryologie der Haustiere.* 4. Aufl. Stuttgart: Enke Verlag; 2001. p. 180-94.
- Scholtes MC, Wladimiroff JW, Van Rijen HJ, Hop WC. Uterine and ovarian flow velocity waveforms in the normal menstrual cycle: a transvaginal Doppler study. *Fertil Steril.* 1989;52:981-5.

Schöning A, Bartmann CP, Merkt H, Schoon HA, Klug E. Clinical and pathohistological review upon 150 cases of endometrial cysts in mares. *Pferdeheilkunde*. 1997;13:547-8.

Schoon HA, Schoon D, Klug E. Uterusbiopsien als Hilfsmittel für Diagnose und Prognose von Fertilitätsstörungen der Stute. *Pferdeheilkunde*. 1992;8:355-62.

Schoon HA, Schoon D, Ohnesorge B, Klug E. Zu Diagnose, Pathogenese und Bedeutung endometrialer Zysten bei der Stute. *Pferdeheilkunde*. 1993;9:215-21.

Schoon D, Schoon HA, Klug E. Angiopathien im Endometrium der Stute: Diagnose und prognostische Bedeutung. In: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG), editor. 13. Fachtagung der Fachgruppe Pferdekrankheiten der DVG; 1994a; Wiesbaden, Bundesrepublik Deutschland. Giessen: Verlag der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft; 1994a. p. 17-29.

Schoon HA, Schoon D, Klug E. Klinische Pathologie, Diagnostik und Terminologie endometrial bedingter Fertilitätsstörungen beim Pferd. In: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG), editor. DVG-Tagungsbericht, 13. Arbeitstagung der Fachgruppe Pferdekrankheiten; 1994 Mar 24b; Wiesbaden, Bundesrepublik Deutschland. Giessen: Verlag der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft; 1994b. p. 1-16.

Schoon HA, Schoon D, Kötter B, Runge A, Klug E. Zu Pathogenese und Prognose der Endometrose der Stute. In: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG), editor. Bericht des 21. Kongresses der DVG e.V.; 1995 Mar 21; Bad Nauheim, Bundesrepublik Deutschland. Giessen: Verlag der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft; 1995. p. 273-82.

Schoon D, Grüninger B, Wrede S, Kriesten H, Menger S, Bartmann CP. Vascular lesions in the equine endometrium. *Pferdeheilkunde*. 1997a;13:546.

Schoon HA, Schoon D, Klug E. Die Endometriumbiopsie bei der Stute im klinisch-gynäkologischen Kontext. *Pferdeheilkunde*. 1997b;13:453-64.

Schoon D, Schoon HA, Klug E. Angioses in the equine uterus - Pathogenesis and clinical correlations. *Pferdeheilkunde*. 1999a;15:541-6.

Schoon HA, Schoon D, Wiegandt I, Bartmann CP, Aupperle H. "Endometrial maldifferentiation" - A clinically significant diagnosis in equine reproduction? *Pferdeheilkunde*. 1999b;15:555-9.

Schummer A, Vollmerhaus B. Weibliche Geschlechtsorgane. In: Nickel R, Schummer A, Seiferle E, editors. *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere*. 6. Aufl. Berlin, Hamburg: Parey Verlag; 1987. p. 376-415.

Schürch W, Seemayer T, Gabbiani G. Myofibroblast. In: Sternberg SS, editor. *Histology of pathologists*. New York: Raven Press.; 1992. p. 109-44.

Schwartz CJ, Gerrity RG, Lewis LJ. Arterial endothelial structure and function with particular reference to permeability. *Atheroscler Rev.* 1978;3:109-24.

Shi Y, O'Brien JE, Jr., Fard A, Mannion JD, Wang D, Zalewski A. Adventitial myofibroblasts contribute to neointimal formation in injured porcine coronary arteries. *Circulation.* 1996a;94:1655-64.

Shi Y, O'Brien JE, Fard A, Mannion JD, Wang D, Zalewski A. Adventitial myofibroblasts contribute to neointimal formation in injured porcine coronary arteries. *Circulation.* 1996b;94:1655-64.

Shi Y, O'Brien JE, Jr., Fard A, Zalewski A. Transforming growth factor-beta 1 expression and myofibroblast formation during arterial repair. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996c;16:1298-305.

Shi Y, Patel S, Niculescu R, Chung W, Desrochers P, Zalewski A. Role of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in the regulation of coronary cell migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:1150-5.

Shi Y, Niculescu R, Wang D, Patel S, Davenpeck KL, Zalewski A. Increased NAD(P)H oxidase and reactive oxygen species in coronary arteries after balloon injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:739-45.

Shibuya T, Kambayashi J, Okahara K, Kim DI, Kawasaki T, Sakon M. Subendothelial layer of pseudointima of polytetrafluoroethylene graft is formed by transformation of fibroblasts migrated from extravascular space. *Eur J Vasc Surg.* 1994;8:276-85.

Short M, Nemenoff RA, Zawada WM, Stenmark KR, Das M. Hypoxia induces differentiation of pulmonary artery adventitial fibroblasts into myofibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2004;286:C416-C425.

Siow RC, Mallawaarachchi CM, Weissberg PL. Migration of adventitial myofibroblasts following vascular balloon injury: insights from in vivo gene transfer to rat carotid arteries. *Cardiovasc Res.* 2003;59:212-21.

Sladkevicius P, Valentin L, Marsal K. Blood flow velocity in the uterine and ovarian arteries during the normal menstrual cycle. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1993;3:199-208.

Smollich A. Kreislaufsystem. In: Smollich A, Michel G, editors. *Mikroskopische Anatomie der Haustiere.* 2. Aufl. Jena, Stuttgart: Fischer Verlag; 1992a. p. 15-58.

Smollich A. Weibliches Geschlechtssystem. In: Smollich A, Michel G, editors. *Mikroskopische Anatomie der Haustiere.* 2. Aufl. Jena: Fischer Verlag; 1992b. p. 281-333.

Smollich A. Endothel, Myozyten, Fibroblasten, Fibrozyten, Perizyten. In: Wiesner E, Ribbeck R, editors. *Lexikon der Veterinärmedizin.* 4. Aufl. Stuttgart: Enke Verlag; 2000. p. 415, 484, 485, 981, 1109.

- Sottiurai VS, Batson RC. Role of myofibroblasts in pseudointima formation. *Surgery*. 1983;94:792-801.
- Spaniel-Borowski K, Amselgruber W, Sinowatz F. Capillary sprouts in ovaries of immature superstimulated golden hamsters: a SEM study of microcorrosion casts. *Anat Embryol (Berl)*. 1987;176:387-91.
- Squires EL, Douglas RH, Steffenhagen WP, Ginther OJ. Ovarian changes during the estrous cycle and pregnancy in mares. *J Anim Sci*. 1974;38:330-8.
- Stabenfeldt GH, Hughes JP, Evans JW, Geschwind II. Unique aspects of the reproductive cycle of the mare. *J Reprod Fertil Suppl*. 1975;155-60.
- Stadler R, Orfanos CE. Maturation and aging of elastic fibers. *Arch Dermatol Res*. 1978;262:97-111.
- Staubesand J. Hämodynamische Fehlbelastung - Risikofaktor für die Gefäßwand. In: Hauss WH, Leder HD, editors. *Ergebn.Angiol*. 20. Aufl. 1980. p. 7-23.
- Staubesand J. Mediadysplasie und Arteriosklerose. *Therapiewoche*. 1982;32:851-77.
- Stenmark KR, Gerasimovskaya E, Nemenoff RA, Das M. Hypoxic activation of adventitial fibroblasts: role in vascular remodeling. *Chest*. 2002;122:326S-34S.
- Sternberger LA, Hardy PH, Jr., Cuculis JJ, Meyer HG. The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry: Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem*. 1970;18:315-33.
- Stolla R, Bollwein H. Color doppler sonography of the uterine artery in subfertile mares. *Pferdeheilkunde*. 1997;13:547.
- Stolla R, Ratjen J, Sieme H, Bollwein H. Uterine perfusion and early pregnancy rates in brood mares. *Pferdeheilkunde*. 2003;19:650-2.
- Sucker C, Lanzer P. [Arteriosclerosis and media sclerosis. A comparison of two calcifying vascular diseases]. *Med Klin (Munich)*. 2000;95:207-10.
- Tan SL, Zaidi J, Campbell S, Doyle P, Collins W. Blood flow changes in the ovarian and uterine arteries during the normal menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;175:625-31.
- Ten Berge BS. Veränderungen in den Blutgefäßen in Uterus und Ovarien nach Gebrauch von oralen Antikonzeptiva. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 1968;28:1063-4.
- Ten Berge BS. Histological changes in ovarian and uterine blood vessels after the use of oral contraceptive agents (estrogen-gestagen-combinations) and gestagens. *Int J Fertil*. 1973;18:57-63.

Thyberg J. Phenotypic modulation of smooth muscle cells during formation of neointimal thickenings following vascular injury. *Histol Histopathol.* 1998;13:871-91.

Tinkanen H, Kujansuu E, Laippala P. Vascular resistance in uterine and ovarian arteries: its association with infertility and the prognosis of infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1994;57:111-5.

Tinkanen H, Kujansuu E, Laippala P. The association between hormone levels and vascular resistance in uterine and ovarian arteries in spontaneous menstrual cycles - a Doppler ultrasound study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1995;74:297-301.

Tomasini BR, Mosher DF. On the identity of vitronectin and S-protein: immunological crossreactivity and functional studies. *Blood.* 1986;68:737-42.

Trautmann A, Fiebiger J. Weibliche Geschlechtsorgane. In: Trautmann A, Fiebiger J, editors. *Lehrbuch der Histologie und vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haussäugetiere.* 6. Aufl. Berlin: Parey Verlag; 1931. p. 235-54.

Van Blerkom J, Antezak M, Schrader R. The developmental potential of the oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics. *Hum Reprod.* 1997;12:1047-55.

Van Niekerk CH, Gerneke WH, Van Heerden JS. Anatomical and histological observations on the reproductive tract of mares with abnormal oestrous cycles. *J S Afr Vet Assoc.* 1973;44:141-52.

Van Niekerk CH, Morgenthal JC, Gerneke WH. Relationship between the morphology of and progesterone production by the corpus luteum of the mare. *J Reprod Fertil Suppl.* 1975;171-5.

Von Sandersleben J, Dämmrich K, Dahme E. *Pathologische Histologie der Haustiere.* Jena: Gustav Fischer Verlag; 1989.

Voss B, Rauterberg J, Müller KM. The perivascular connective matrix. *Pathol Res Pract.* 1994;190:969-83.

Waelchli RO, Winder NC. Distribution of histological lesions in the equine endometrium. *Vet Rec.* 1989;124:274-6.

Walt ML, Stabenfeldt GH, Hughes JP, Neely DP, Bradbury R. Development of the equine ovary and ovulation fossa. *J Reprod Fertil Suppl.* 1979;27:471-7.

Warszawsky LF, Parker WG, First NL, Ginther OJ. Gross changes of internal genitalia during the estrous cycle in the mare. *Am J Vet Res.* 1972;33:19-26.

Watson ED, Al-zi'abi MO. Angiogenesis in follicles of mares during spring transition and breeding season. *Theriogenology.* 2002;58:607-8.

Wein S, Gutjahr S, Ludwig S, Becker F, Sobiraj A. Correlation between uterine angiopathies and intraovarian blood supply in mares - dopplersonographic studies. In: DVG, editor. Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Fachgruppe "Fortpflanzung und ihre Störungen"; 2002 Feb 15; Leipzig, Bundesrepublik Deutschland. Giessen: Verlag der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft; 2002. p. 120.

Wein S. Dopplersonographische Untersuchungen zur ovariellen Durchblutungsrate bei Stuten in Abhängigkeit vom Zyklus [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2003.

Wilkens H, Münster W. Arterien, Arteriae. In: Nickel R, Schummer A, Seiferle E, editors. Lehrbuch der Anatomie der Haustiere (Kreislaufsystem, Haut und Hautorgane). 2. Aufl. Berlin, Hamburg: Paul Parey Verlag; 1984a. p. 76,-183.

Wilkens H, Münster W. Venen, Venae. In: Nickel R, Schummer A, Seiferle E, editors. Lehrbuch der Anatomie der Haustiere (Kreislaufsystem, Haut und Hautorgane). 2. Aufl. Berlin, Hamburg: Parey Verlag; 1984b. p. 183-273.

Witherspoon DM, Talbot RB. Ovulation site in the mare. J Am Vet Med Assoc. 1970;157:1452-9.

Woschee I. Farbdopplersonographische Untersuchungen der Arteria uterina, Arteria ovarica und Arteria umbilicalis während der Gravidität und des Puerperiums der Stute [Dissertation med. vet]. München: LMU München; 1999.

Wrede S. Zur Pathogenese der Graviditätssklerose an endometrialen Gefäßen der Stute [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1999.

Yamada O, Abe M, Takehana K, Hiraga T, Iwasa K, Hiratsuka T. Microvascular changes during the development of follicles in bovine ovaries: a study of corrosion casts by scanning electron microscopy. Arch Histol Cytol. 1995a;58:567-74.

Yamada O, Abe M, Takehana K, Iwasa K, Hiraga T, Hiratsuka T. Microvascular changes in the bovine corpus luteum during pregnancy. J Vet Med Sci. 1995b;57:75-9.

Zaidi J, Barber J, Kyei-Mensah A, Bekir J, Campbell S, Tan SL. Relationship of ovarian stromal blood flow at the baseline ultrasound scan to subsequent follicular response in an in-vitro fertilization program. Obstet Gynecol. 1996;88:779-84.

Zalewski A, Shi Y. Vascular myofibroblasts. Lessons from coronary repair and remodeling. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1997;17:417-22.

Zalewski A, Shi Y, Johnson AG. Diverse origin of intimal cells: smooth muscle cells, myofibroblasts, fibroblasts, and beyond? Circ Res. 2002;91:652-5.

## 9 Anhang

### 9.1 Gruppierung und Charakterisierung des Untersuchungsmaterials

Tab. 9.1.a: Juvenile, präpubertäre Stuten

Gruppe \ Alter	Alter	Tierart / Rasse	Zyklusstand	Parität	Sektionsbefund
I	10 Tage	unbekannt	Azyklie	nullipar	Oberkieferzyste
I	1 Tag	Warmblut	Azyklie	nullipar	Atresia coli
I	1 Tag	unbekannt	Azyklie	nullipar	Unreife Frucht
I	1 Tag	Zebra	Azyklie	nullipar	Neugeborenes
I	6 Mon.	unbekannt	Azyklie	nullipar	Myositis
I	7 Mon.	Araber	Azyklie	nullipar	Pneumonie
I	9 Mon.	Dt. Reitpferd	Azyklie	nullipar	Bornasche Kr.
I	9 Mon.	Warmblut	Azyklie	nullipar	Bornasche Kr.
I	1 Jahr	Dt. Reitpferd	Azyklie	nullipar	Bornasche Kr.

Tab. 9.1.b: Adulte, zyklisierende Stuten unterschiedlicher Parität

Gruppe \ Alter	Alter	Tierart / Rasse	Zyklusstand	Parität	Sektionsbefund
II	21 Mon.	Vollblut	Winteranöstrus	nullipar	Hämorrhagien
II	2,5 Jahre	Warmblut	Interöstrus	nullipar	Ileumstriktur
II	3 Jahre	Dt. Reitpferd	Östrus	nullipar	Darmruptur
II	3 Jahre	Warmblut	Interöstrus	nullipar	Beckenfraktur
II	5 Jahre	Warmblut	Postöstrus	nullipar	Bornasche Kr.
II	5 Jahre	Unbekannt	Interöstrus	nullipar	Flexio caeci
II	5 Jahre	Haflinger	Interöstrus (früh)	nullipar	Hepatitis
II	6 Jahre	Kaltblut	Interöstrus (spät)	nullipar	Grass sickness
II	6 Jahre	Unbekannt	Interöstrus	nullipar	Bornasche Kr.
II	7 Jahre	Unbekannt	Präöstrus	nullipar	Enzephalitis

Fortsetzung zu Tab. 9.1.b: Adulte, zyklierende Stuten unterschiedlicher Parität

<b>II</b>	8 Jahre	Unbekannt	Interöstrus (früh)	nullipar	Keine Angabe
<b>II</b>	16 Jahre	Warmblut	Postöstrus	nullipar	Arthrose
<b>II</b>	19 Jahre	Haflinger	Interöstrus	nullipar	Kolitis
<b>II</b>	4 Jahre	Warmblut	Interöstrus	primipar	Schock
<b>II</b>	4 Jahre	Kaltblut	Interöstrus	primipar	Torsio coli
<b>II</b>	6 Jahre	Eur. Warmblut	Interöstrus	primipar	Darmruptur
<b>II</b>	7 Jahre	Unbekannt	Interöstrus	primipar	Enteritis
<b>II</b>	7 Jahre	Araber	Östrus	primipar	Myositis
<b>II</b>	8 Jahre	Haflinger	Interöstrus	primipar	Serom
<b>II</b>	9 Jahre	Unbekannt	Postöstrus	primipar	Torsio coli
<b>II</b>	9 Jahre	Haflinger	Interöstrus (früh)	primipar	Darmruptur
<b>II</b>	13 Jahre	Unbekannt	Postöstrus	primipar	Zäkumobstipation
<b>II</b>	15 Jahre	Haflinger	Östrus	primipar	Schock
<b>II</b>	15 Jahre	Dt. Reitpferd	Interöstrus	primipar	Bornasche Kr.
<b>II</b>	16 Jahre	Warmblut	Östrus	primipar	Schock
<b>II</b>	16 Jahre	Kaltblut	Interöstrus	primipar	Kolonobstipation
<b>II</b>	16 Jahre	Bayr. Warmblut	Östrus	primipar	Nierenkarzinom
<b>II</b>	20 Jahre	Warmblut	Interöstrus (spät)	primipar	Enteritis
<b>II</b>	26 Jahre	Warmblut	Postöstrus	primipar	Torsio coli
<b>II</b>	7 Jahre	Dt. Reitpferd	Winteranöstrus	multipar	Pneumonie
<b>II</b>	10 Jahre	Unbekannt	Östrus	multipar	Torsio coli
<b>II</b>	10 Jahre	Dülmener Stute	Östrus	multipar	Schädelfraktur
<b>II</b>	10 Jahre	Vollblut	Endo. Hyperplasie	multipar	Magenruptur
<b>II</b>	12 Jahre	Pony	Winteranöstrus	multipar	Gastritis
<b>II</b>	15 Jahre	Haflinger	Postöstrus	multipar	COPD
<b>II</b>	15 Jahre	Fjordpferd	Interöstrus	multipar	Bornasche Kr.



Fortsetzung der Tab. 9.1.b: Adulte, zyklisierende Stuten mit unterschiedlicher Parität

<b>II</b>	17 Jahre	Araber	Winteranöstrus	multipar	Ösophagusruptur
<b>II</b>	19 Jahre	Eur. Warmblut	Interöstrus	multipar	Melanom
<b>II</b>	20 Jahre	Pony	Interöstrus	multipar	Pneumonie
<b>II</b>	22 Jahre	Warmblut	Interöstrus (spät)	multipar	Hernia mesenterialis
<b>II</b>	24 Jahre	Dt. Reitpferd	Interöstrus	multipar	Arthrose

Tab.9.1.c: Adulte, gravide Stuten in unterschiedlichen Stadien der Trächtigkeit

<b>Gruppe</b>	<b>Alter</b>	<b>Tierart / Rasse</b>	<b>Trächtigkeitsmonat</b>	<b>Parität</b>	<b>Sektionsbefund</b>
<b>III</b>	10 Jahre	Eur. Warmblut	1.	primipar	Kolitis
<b>III</b>	7 Jahre	Dt. Reitpferd	1./2.	primipar	Torsio jejuni
<b>III</b>	12 Jahre	Warmblut	3.	primipar	Darmruptur
<b>III</b>	5 Jahre	Pony	3.	primipar	Trachealkollaps
<b>III</b>	15 Jahre	Eur. Warmblut	10.	primipar	Hernia mesenterialis
<b>III</b>	12 Jahre	Warmblut	9.	primipar	Bornasche Kr.
<b>III</b>	8 Jahre	Warmblut	9.	primipar	Kolitis X

Tab.9.1.d: Adulte, postpartale Stuten

<b>Gruppe</b>	<b>Alter</b>	<b>Tierart / Rasse</b>	<b>Postpartalphase</b>	<b>Parität</b>	<b>Sektionsbefund</b>
<b>IV</b>	10 Jahre	Zebra	1 Tag	primipar	Trauma
<b>IV</b>	15 Jahre	Warmblut	11 Tage	multipar	Darmruptur
<b>IV</b>	15 Jahre	Unbekannt	28 Tage	multipar	Lochiometra

Legende: Mon. = Monat

Perivaskul. = Perivaskulitis

Bornasche Kr. = Bornasche Krankheit

Endo. Hyperplasie = Endometriale

Hyperplasie

Bayr. Warmblut = Bayrisches Warmblut

Dt. Reitpferd = Deutsches Reitpferd

Eur. Warmblut = Europäisches Warmblut

## 9.2 Histologische Normalbefunde ovarieller und extraovarieller Gefäße

Tab. 9.2: Pathohistologische Charakterisierung arterieller und venöser Gefäßbefunde junger Maidenstuten im Bereich des Ovars (modifiziert nach KRIESTEN 1995)

Schicht Gefäßtyp	Gefäßschicht		
	Intima	Media	Adventitia
<b>Kapillaren</b>	flaches, einschichtiges Endothel; peripher unvollständige Schicht aus Perizyten	fehlt vollständig	fehlt vollständig
<b>Arteriolen</b>	flaches, einschichtiges Endothel; undeutliches Stratum subendotheliale; undeutliche MEI	< 5 konzentrisch geschichtete Myozytenlagen	nicht abgrenzbar
<b>kleine Arterien</b>	flaches, einschichtiges Endothel; schwach ausgebildetes Stratum subendotheliale; feine, undulierend verlaufende MEI	~ 5-10 spiralig verlaufende Myozytenlagen, eingebettet in ein Fasergerüst aus kollagenen und elastischen Fasern; keine MEE	nicht deutlich abgrenzbarer fibroelastischer Netzverband mit einzelnen eingestreuten Fibrozyten
<b>mittel-große Arterien</b>	flaches, einschichtiges Endothel; deutliches Stratum subendotheliale; gut ausgebildete, feine, undulierend verlaufende MEI	~ 10-15 konzentrisch geschichtete Myozytenlagen mit einem feinen Fasergerüst aus kollagenen und elastischen Fasern; feine, z.T. nicht durchgängige MEE	deutlich abgrenzbares, locker angeordnetes fibroelastisches Netzwerk mit zahlreichen Fibrozyten, multiple Vasa vasorum (Arteriolen)
<b>große Arterien</b>	flaches, einschichtiges Endothel; sehr deutliches Stratum subendotheliale; gut ausgebildete MEI	~ 15-30 spiralig verlaufende Myozytenlagen; feines Fasergerüst aus kollagenen und elastischen Fasern; Ausbildung einer feinen MEE im Übergang zur Adventitia	deutlich abgrenzbarer; locker angeordneter Netzverband aus kollagenen und elastischen Fasern; multiple Vasa vasorum (kl. Arterien und Arteriolen)
<b>Venolen</b>	flaches, einschichtiges Endothel, Stratum subendotheliale nicht abgrenzbar; MEI fehlt	dünnwandig mit nur wenigen Myozyten oder Perizyten	nicht abgrenzbar
<b>kleine Venen</b>	flaches, einschichtiges Endothel; Stratum subendotheliale nicht abgrenzbar; MEI fehlt	dünnwandig, mit einzelnen eingelagerten Myozyten in ein überwiegend aus kollagenen, teils elastischen Fasern bestehendes Grundgerüst	nicht deutlich abgrenzbar; Fasernetz bestehend aus locker angeordneten, kollagenen Faserbündeln sowie einzelnen Fibrozyten
<b>mittel-große Venen</b>	flaches, einschichtiges Endothel; Stratum subendotheliale nicht abgrenzbar; MEI fehlt	dünnwandig, mit zirka 1-2 eingelagerten Myozytenschichten; vorwiegend aus kollagenen Fasern, teils elastischen Fasern bestehendes Grundgerüst	nicht deutlich abgrenzbar; Fasernetz bestehend aus locker angeordneten kollagenen Faserbündeln sowie einzelnen Fibrozyten; Nachweis multipler Vasa vasorum
<b>große Venen</b>	flaches, einschichtiges Endothel; Stratum subendotheliale nicht abgrenzbar; MEI fehlt	dünnwandig mit 2 bis 3-schichtig angeordneten Myozytenlagen, eingebettet in ein aus kollagenen Fasern bestehendes Grundgerüst	nicht deutlich abgrenzbar; fibroelastisches Fasernetz mit einigen eingestreuten Fibrozyten, Vasa vasorum Myozyten und Nervenfasern

Legende: MEI = Membrana elastica interna

MEE = Membrana elastica externa

Tab. 9.3: Pathohistologische Charakterisierung arterieller und venöser Gefäßbefunde (A. und V. ovarica) junger, nulliparer Stuten

Schicht Gefäßtyp	Gefäßschicht		
	Intima	Media	Adventitia
<b>A. ovarica</b>	flaches, einschichtiges Endothel; sehr deutliches Stratum subendotheliale mit einzelnen feinen, kollagenen und elastischen Fasern; gut ausgebildete, undulierend verlaufende MEI	~ 15-30 regulär spiralig verlaufende Lagen aus Mediamyozyten; eingebettet in ein feines Fasergerüst aus kollagenen und elastischen Fasern; Ausbildung einer feinen MEE im Übergang zur Adventitia	deutlich abgrenzbar; locker angeordneter Netzverband aus überwiegend kollagenen Fasern sowie einigen Perizyten; multiple Vasa vasorum (kl. Arterien und Arteriolen), vereinzelt auch Nervenanschnitte
<b>V. ovarica</b>	flaches, einschichtiges Endothel; kein Stratum subendotheliale abgrenzbar; MEI fehlt	dünnwandig mit 2 bis 3 Myozytenlagen, eingebettet in ein fibroelastisches Gerüstwerk	undeutlich ausgebildet, bestehend aus locker angeordneten, kollagenen Faserbündeln sowie eingestreuten Perizyten

Legende: MEI = Membrana elastica interna MEE = Membrana elastica externa

### 9.3 Tabellarische Auflistung histologischer Ergebnisse

Tab. 9.4: Verteilung der histologisch bestimmten Funktionskörper der Follikel- und Gelbkörperphase in Abhängigkeit vom Zyklusstand und dem Reproduktionsstatus (x / y = Anzahl der histologisch bestimmten Funktionskörper / Stutenzahl)

Funktionskörper \ Zyklusstand	Juvenil (n=9)	Prä- östrus (n=1)	Östrus (n=7)	Post- östrus (n=6)	Inter- östrus (n=22)	Winter- anöstrus (n=4)	Gravid (n=7)	PP (n=3)	Fehl- diff. (n=1)
Primordialfollikel	(~90/9)	--	--	--	(3/1)	--	(3/1)	--	--
Primärfollikel	(~900/9)	--	----	--	(1/1)	--	--	--	--
Sekundärfollikel	(2/2)	--	--	--	--	--	--	--	--
Reifer Tertiärfollikel	(1/1)	(1/1)	(3/3)	(1/1)	(1/1)	--	(2/2)	--	--
Tertiärfollikel (frühe Atresie)	(8/4)	(1/1)	(4/3)	(1/1)	(12/9)	(4/4)	(5/5)	--	--
Tertiärfollikel (mittlere Atresie)	(12/7)	--	(7/4)	(3/3)	(42/13)	(4/2)	(5/4)	(2/1)	--
Tertiärfollikel (späte Atresie)	(17/6)	(3/1)	(9/5)	(12/6)	(22/12)	(9/4)	(11/5)	(1/1)	(4/1)
Luteinisierte Follikel	--	--	(2/2)	(5/2)	(5/4)	--	(7/3)	(2/1)	(1/1)
C. fibrosum	(2/2)	--	(3/2)	(1/1)	(5/5)	(1/1)	--	--	--
C. haemorrhagicum	--	--	(1/1)	(12/5)	(14/11)	--	(1/1)	(2/2)	--
C. luteum (Blüte)	--	--	--	(1/1)	(15/11)	--	(14/4)	(1/1)	(2/1)
C. luteum (Regress.)	--	(1/1)	--	(1/1)	(7/4)	--	--	--	--
C. albicans	--	(1/1)	(4/3)	(2/2)	(9/6)	(4/4)	--	--	--

Legende: C. = Corpus; Regress. = Regression; Fehldiff. = Endometr. Fehldifferenzierung; PP = post partum

## 9.4 Histologische Spezialfärbungen

### 9.4.1 Von-Kossa-Färbung

Verwendete Färbelösungen:

- 5 %ige Silbernitratlösung: 5 g Silbernitrat (Fa. Roth, Karlsruhe, Art.-Nr.: 7908.01) in 100 ml Aqua dest. auflösen
- 1 %ige Pyrogallolsäure: 1 g Pyrogallol (Fa. Merck, Darmstadt, Art.-Nr.: 1.00612) in 100 ml Aqua dest. auflösen
- 5 %ige Natriumthiosulfatlösung: 5 g Natriumthiosulfat (Fa. Roth, Karlsruhe, Art.-Nr.: 8649.1) auf 100 ml Aqua dest. lösen

#### Färberezept:

1. Schnitte entparaffinieren
2. Schnitte bei starker Belichtung in 5 %ige Silbernitratlösung bringen (30-60 Minuten)
3. Auswaschen in Aqua dest.
4. Schnitte in 1 %ige Pyrogallolsäure bringen (1-3 Minuten)
5. Abspülen in Aqua dest.
6. Fixieren in 5 %iger Natriumthiosulfatlösung (3-5 Minuten)
7. Auswaschen in Wasser
8. Gegenfärbung der Kerne mit Kernechtrot-Aluminiumsulfat (5-10 Minuten)
9. Kurz Auswaschen in Wasser
10. Entwässern in der aufsteigenden Alkoholreihe (beginnend mit 70 %igem Alkohol)
11. Eindecken mit dem Eindeck-Automat Tissue-Tek<sup>®</sup> (Fa. Vogel, Giessen)

### 9.4.2 Berliner-Blau-Färbung

Verwendete Färbelösungen:

2 %ige wässrige Ferrozynkalium-Lösung (Kaliumhexacyanoferrat-II, (Fa. Merck, Darmstadt, 4984) mit 5 Tropfen konzentrierter HCl vermischen und filtrieren.

#### Färberezept:

1. Entparaffinieren und Rehydrieren der Schnitte (im Wasser auffangen)
2. 2 %ige wässrige Ferrozynkalium-Lösung und mit 5 Tropfen konzentrierter HCl vermischen
3. Auswaschen in Aqua dest.
4. Gegenfärbung mit Kernechtrot (10 Minuten)
5. Abspülen in H<sub>2</sub>O
6. Kurz im warmen Wasser diffundieren lassen
7. Entwässern in der aufsteigenden Alkoholreihe (beginnend mit 70 %igem Alkohol)
8. 2 Portionen Xylol (je 5 Minuten)
9. Eindecken mit dem Eindeck-Automat Tissue-Tek<sup>®</sup> (Fa. Vogel, Giessen)

### 9.4.3 Verlängerte Ziehl-Neelsen-Färbung

#### Färberezept:

1. Karbolfuchsin-Färbung (Dr. K. Hollborn und Söhne GmbH, Leipzig; C02-0500) im vorgewärmten Brutschrank bei 60°C (2 Stunden)
2. Abkühlen der Schnitte (30 Minuten)
3. Schnitte im 1-3 %igen HCl-Alkohol diffundieren lassen
4. Abspülen in fließendem Wasser (10 Minuten)
5. Methylenblau-Lösung (Dr. K. Hollborn und Söhne GmbH, Leipzig; M17-0500) als Gegenfärbung (kurzes Eintauchen)
6. Abspülen in dest. H<sub>2</sub>O
7. 2 Portionen 96 %iger Alkohol und absoluter Alkohol zum Entwässern (jeweils 1-2 Minuten)
8. 2 Portionen Xylol (je 5 Minuten)
9. Eindecken mit dem Eindeck-Automat Tissue-Tek<sup>®</sup> (Fa. Vogel, Giessen)

### 9.4.4 PAS-Reaktion (Period-acid-Schiff-reaction) nach Schüller

#### Färberezept:

1. Oxydieren in 1 %iger Perjodsäurelösung (10 Minuten)
2. Kurz Waschen in Aqua dest.
3. Einstellen in Schiffs-Reagenz (45 Minuten)
4. Wässern unter fließendem Wasser (20 Minuten)
5. Kernfärbung mit Hämalun (3 Minuten)
6. Bläuen in Leitungswasser
7. 2 Portionen 96 %iger Alkohol und absoluter Alkohol zum Entwässern
8. 2 Portionen Xylol (je 5 Minuten)
9. Eindecken mit dem Eindeck-Automat Tissue-Tek<sup>®</sup> (Fa. Vogel, Giessen)

### 9.4.5 Turnbull-Blau-Färbung

#### Färberezept:

1. Einlegen der Schnitte in 10 %iges Ammoniumsulfid (90 Minuten)
2. Dreimaliges Waschen in Aqua dest. (jeweils 2 Minuten)
3. Einlegen der Schnitte in 50 ml 1 %iger HCl und 50 ml 20 %igem Kaliumhexacyanoferrat III (30 Minuten)
4. Zweimaliges Waschen in dest. Aqua dest. (2 Minuten)
5. Kernfärbung mit Kernechtrot (bis 10 Minuten)
6. Abspülen in Aqua dest.
7. 2 Portionen 96 %iger Alkohol und absoluter Alkohol zum Entwässern (jeweils 1-2 Minuten)
8. 2 Portionen Xylol (je 5 Minuten)
9. Eindecken mit dem Eindeck-Automat Tissue-Tek<sup>®</sup> (Fa. Vogel, Giessen)

## 9.5 Immunhistologie

### 9.5.1 Benötigte Puffer, Lösungen und Seren

#### • Tris-buffered saline (TBS, pH 7,6)

##### - Stammlösung:

60,57 g Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (Carl Roth KG, Karlsruhe)

610 ml Aqua dest.

390 ml HCl 1 N (E. Merck, Darmstadt)

##### - Gebrauchslösung:

100 ml Stammlösung

900 ml 0,8 %ige NaCl (E. Merck, Darmstadt)

#### • Phosphate - buffered saline (PBS; pH 7,2; 300 mosm/l)

##### - Stammlösung:

42 g NaCl krist. (E. Merck, Darmstadt)

9,26 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O p.a. (E. Merck, Darmstadt)

2,15 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (E. Merck, Darmstadt)

Aqua bidest. ad 1000ml

##### - Gebrauchslösung:

Stammlösung 1:5 in Aqua bidest. verdünnen

#### • Zitratpuffer (10 mM, pH 6,0)

##### - Stammlösung A:

0,1 M Zitronensäure (E. Merck, Darmstadt)

(21,01 g C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> x H<sub>2</sub>O in 1000 ml Aqua dest.)

##### - Stammlösung B:

0,1 M Natriumzitat

(29,41 g C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> Na<sub>3</sub> x H<sub>2</sub>O in 1000 ml Aqua dest.)

##### - Gebrauchslösung:

9 ml Stammlösung A und 41 ml Stammlösung B mit 450 ml Aqua dest. auf 500 ml auffüllen

#### • Imidazol / HCl-Puffer 0,1 M (pH 7,1)

6,81 g Imidazol (E. Merck, Darmstadt)

Aqua dest. ad 1000 ml

Zugeben von 500 ml 0,1 M HCl (E. Merck, Darmstadt)

• Diaminobenzidintetrahydrochlorid-Lösung (DAB):

100 mg DAB (Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu Ulm) in 200 ml 0,1 M Imidazol / HCl-Puffer, pH 7,1 lösen und mittels Magnetrührer mischen

Filtern und unmittelbar vor dem Gebrauch 70 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %) (E. Merck, Darmstadt) zugeben

• Papanicolaou-Lösung:

Papanicolaou-Lösung (E. Merck, Darmstadt) und Aqua dest. im Verhältnis 1:20 mischen und filtrieren

• Schweineserum:

Das von Schlachtschweinen stammende Serum wurde sterilfiltriert, zur Konservierung mit 0,05 %igem Merthiolat versetzt und bis zur Verwendung bei - 20°C gelagert

## 9.5.2 Verwendete Positivkontrollen, Kontrollseren, Sekundärantikörper und Detektionssysteme

- Positivkontrollen:

Als Positivkontrollen dienten die im histologischen Schnitt enthaltenen vaskulären Endothel- und Muskelzellen, sowie die kollagenen und elastischen Fasern im Bereich des Stromas (interne Positivkontrollen).

- Sekundärantikörper:

Als Sekundärantikörper für **monoklonale Antikörper** nach der PAP-Methode wurde 1:100 in 1 %igem BSA (Bovines Serum Albumin, 3895 Boehringer, Mannheim) in TBS verdünntes Ratte anti-Maus IgG (H&L, Code-Nr.: 415005100, Dianova GmbH, Hamburg) eingesetzt.

Als Sekundärantikörper für **polyklonale Antikörper** nach der PAP-Methode wurde 1:100 in 20 %igem Schweineserum in TBS verdünntes Schweine anti-Kaninchen IgG (DAKO Diagnostics GmbH, ZO176, Hamburg) verwendet.

- Peroxidase anti-Peroxidase-(PAP)-Komplex:

Als PAP-Komplex für die **monoklonalen Antikörper** diente ein 1:500 in 1 %igem BSA in TBS verdünnter Maus-PAP (Code-Nr.: 223005025, Dianova Diagnostica GmbH, Hamburg).

Als PAP-Komplex für die **polyklonalen Antikörper** wurde ein 1:100 in 20 %igem Schweineserum in TBS verdünnter Kaninchen-PAP (DAKO Diagnostics GmbH, ZO113) eingesetzt.

#### - Indirekte Peroxidase-Technik:

Ein EnVision Polymer-Konjugat des DAKO EnVision Systems (Fa. Dako, Hamburg, Code-Nr.: K4001) wurde für den verwendeten **monoklonalen Antikörper** 1:400 in 1 %igem BSA in TBS verdünnt eingesetzt.

#### - Kontrollseren:

Als Kontrollserum (Negativkontrolle) für die **monoklonalen Antikörper** wurde ein monoklonaler Antikörper gegen das Oberflächenantigen von Hühner-Bursa-Lymphozyten (T1, HIRSCHBERGER 1987) verwendet.

Als Negativkontrolle für die **polyklonalen Antikörper** wurden die Schnitte jeweils parallel mit normalen Kaninchenserum (DAKO Diagnostics GmbH, X 0902) inkubiert.

### **9.5.3 Verfahrensschritte der immunhistologischen Untersuchungen (PAP-Methode)**

#### **9.5.3.1 Vorbehandlung**

1. Aufziehen von 3-4 µm dicken Schnitten auf Super-Frost Plus Objektträger (Fa. Menzel-Gläser)  
30 min. Trocknen bei Raumtemperatur vor einem Ventilator, anschließend Lagerung über Nacht im Wärmeschränk bei 37°C
2. Entparaffinierung und Rehydrierung  
10 min. Roti<sup>®</sup>-Histol (Carl Roth KG, Karlsruhe)  
2 x je 3 min. Isopropanol  
3 min. 96 %iger Alkohol
3. Inaktivierung der endogenen Peroxidase  
30 min in Methanol mit frisch zugesetztem 0,5 %igem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bei Raumtemperatur (Perhydrol 30 %ige H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> p.a., 7210, E. Merck, Darmstadt)
4. Waschen in TBS

#### **9.5.3.2 Besondere Verfahrensweise:**

Zur Verstärkung der immunhistologischen Darstellbarkeit der Antigene war bei bestimmten Markern (Elastin, Laminin und Vimentin) eine enzymatische (Protease) oder Säurebehandlung (Zitrat) notwendig. Mit Hilfe dieser Behandlung kommt es zu einer Demaskierung der antigenen Epitope durch eine Aufspaltung der Aldehydvernetzungen. Die histologischen Schnitte zum Nachweis von **Elastin** und **Laminin** wurden einer Protease-Behandlung unterzogen, während bei **Vimentin** die Zitrat-Behandlung zum Einsatz kam.



Zitrat-Behandlung:

- 10 mM Zitratpuffer pH 6,0 auf 96°C vorwärmen
- 30 min. Kochen der Schnitte in 96°C heißem Zitratpuffer
- 30 min. bei Zimmertemperatur abkühlen lassen
- Spülen in TBS

Protease-Behandlung:

- 5 min. Spülen der Schnitte in PBS bei 37°C
- 5 min. Inkubieren der Schnitte in 0,05 %iger Protease in PBS bei 37°C (bakterieller Protease-Typ XXIV, P8038, Sigma Chemie, Deisenhofen)
- 3 x 5 min. Spülen der Schnitte in eiskaltem PBS

**9.5.3.3 Antigennachweis mittels monoklonaler Antikörper nach der PAP-Methode**

1. Wechseln der Schnitte aus der Küvette in Coverplates<sup>®</sup> (721100013 Life Science Int. GmbH, Frankfurt/Main)
2. Einbringen von je 100 µl des in 1 %igem BSA (3895, Boehringer Mannheim) in TBS verdünnten Primärantikörpers (bzw. des Kontrollserums) in die Coverplates<sup>®</sup>  
Inkubation über Nacht bei 4°C
3. Spülen durch Einbringen von 2 ml TBS je Coverplate<sup>®</sup>
4. Einbringen von je 100 µl Ratte-anti-Maus IgG (1:100) in 1 %iges BSA (Bovines Serumalbumin, 3895, Boehringer Mannheim) in TBS je Coverplate<sup>®</sup> (Vimentin, α-Aktin, Elastin, Kollagen-Typ III), 30 min. Inkubation bei Raumtemperatur
5. Spülen durch Einbringen von 2 ml TBS je Coverplate<sup>®</sup>  
Einbringen von je 100 µl Maus-PAP (1:500) in 1 %iges BSA in TBS je Coverplate<sup>®</sup> (Vimentin, Elastin, Kollagen-Typ III, α-Aktin)

**weiter mit Abschnitt 9.5.3.5**

**9.5.3.4 Antigennachweis mittels polyklonaler Antikörper nach der PAP-Methode**

1. Wechseln der Schnitte aus der Küvette in Coverplates<sup>®</sup> (721100013 Life Science Int. GmbH, Frankfurt/Main)
2. Blocken der unspezifischen Bindungen mit 1:1 Schweineserum in TBS, 10 min. bei Raumtemperatur
3. Einbringen von je 100 µl des in 20 %igem Schweineserum in TBS verdünnten Primär-

- antikörpers in die Coverplates<sup>®</sup>, Inkubation bei Nacht bei 4 °C
4. Spülen durch Einbringen von 2 ml TBS je Coverplate<sup>®</sup>
  5. Einbringen von je 100 µl Schwein anti-Kaninchen IgG (1:100) in 20 %iges Schweineserum in TBS je Coverplate<sup>®</sup>,  
30 min. Inkubation bei Raumtemperatur
  6. Spülen durch Einbringen von 2 ml TBS je Coverplate<sup>®</sup>
  7. Einbringen von je 100 µl Kaninchen-PAP (1:100) in 20 %iges Schweineserum in TBS je Coverplate<sup>®</sup>  
30 min. Inkubation bei Raumtemperatur
  8. Spülen durch Einbringen von 2 ml TBS je Coverplate<sup>®</sup>

**weiter mit Abschnitt 9.5.3.5**

#### **9.5.3.5 Nachbehandlung der immunhistologischen Schnitte**

1. Wechseln der Schnitte aus den Coverplates<sup>®</sup> in Küvetten
2. 10 min. Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren (Magnetrührer) in 3,3`-Diaminobenzidinhydrochlorid (DAB, Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu-Ulm) mit 0,01 %igem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %) 0,1 M Imidazolpuffer (pH 7,1) bei Raumtemperatur
3. 3 x 5 min. Waschen bei Raumtemperatur
4. 5 min. Waschen in Aqua dest. bei Raumtemperatur
5. 10 sec. Gegenfärbung mit Papanicolaou-Lösung und 5 min. Bläuen in Leitungswasser
6. Je 3 min. Entwässern in der aufsteigenden Alkoholreihe  
2 x 5 min. Roti<sup>®</sup>-Histol  
10 min. Xylol
7. Eindecken mit dem Eindeckautomat Tissue-Tek<sup>®</sup> (Fa.Vogel, Giessen)

#### **9.5.4 Verfahrensschritte der immunhistologischen Untersuchungen unter Verwendung des DAKO EnVision+<sup>TM</sup>-Systems (Indirekte Peroxidase)**

1. Aufziehen von 3-4 µm dicken Schnitten auf Super-Frost Plus Objektträger (Fa. Menzel-Gläser), 30 min. Trocknen bei Raumtemperatur vor einem Ventilator, anschließend Lagerung über Nacht im Wärmeschränk bei 37°C
2. Entparaffinierung und Rehydrierung  
10 min. Roti<sup>®</sup>-Histol (Carl Roth KG, Karlsruhe)

- 2 x je 3 min. Isopropanol  
3 min. 96 %iger Alkohol
3. Inaktivierung der endogenen Peroxidase  
30 min in Methanol mit frisch zugesetztem 0,5 %igen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bei Raumtemperatur  
(Perhydrol 30 %ige H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> p.a., 7210, E. Merck, Darmstadt)
  4. Waschen in TBS
  5. Wechseln der Schnitte aus der Küvette in Coverplates<sup>®</sup> (721100013 Life Science Int. GmbH, Frankfurt/Main)
  6. Einbringen von je 100 µl des in 1 %igem BSA (3895, Boehringer Mannheim) in TBS verdünnten Primärantikörpers (bzw. des Kontrollserums) in die Coverplates<sup>®</sup>  
Inkubation über Nacht bei 4°C
  7. Spülen durch Einbringen von 2 ml TBS je Coverplate<sup>®</sup>
  8. Einbringen von je 100 µl DAKO EnVision Polymer-Konjugat (1:400) in 1 %iges BSA (Bovines Serumalbumin, 3895, Boehringer Mannheim) in TBS je Coverplate<sup>®</sup>,  
30 min. Inkubation bei Raumtemperatur
  9. Spülen durch Einbringen von 2 ml TBS je Coverplate<sup>®</sup>
  10. Wechseln der Schnitte aus den Coverplates<sup>®</sup> in Küvetten
  11. 10 min. Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren (Magnetrührer) in 3,3'-Diaminobenzidinhydrochlorid (DAB, Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu-Ulm) mit  
0,01 %igem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %) 0,1 M Imidazolpuffer (pH 7,1) bei Raumtemperatur
  12. 3 x 5 min. Waschen bei Raumtemperatur
  13. 5 min. Waschen in Aqua dest. bei Raumtemperatur
  14. 10 sec. Gegenfärbung mit Papanicolaou-Lösung und 5 min. Bläuen in Leitungswasser
  15. Je 3 min. Entwässern in der aufsteigenden Alkoholreihe  
2 x 5 min. Roti<sup>®</sup>-Histol  
10 min. Xylol

## Danksagung

Mein Dank gilt **Herrn Prof. Dr. H.-A. Schoon** für die Überlassung des sehr interessanten Themas sowie für die gute Betreuung und die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit. Frau **Dr. D. Schoon** danke ich auch für die allzeit gewährte fachliche und sehr nette Hilfe.

Ferner möchte ich mich bei Frau **Dr. H. Aupperle** bedanken für die hilfsbereite und sachkundige Unterstützung. Ihre Hinweise und Ratschläge haben wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Bei allen technischen Mitarbeitern des Institutes für Veterinär-Pathologie möchte ich mich ganz herzlich für die allzeit gewährte sehr nette Unterstützung und Zusammenarbeit bedanken. Besonderen Dank gilt dem „kleinen“ Labor (**Frau Wipplinger**) und dem „großen“ Labor (**Frau Herzog, Frau Schleinitz und Frau Pleitz**), die mich tatkräftig bei der Anfertigung der histologischen Präparate, der Durchführung färbetechnischer und immunhistologischer Methoden unterstützt haben. Darüber hinaus möchte ich mich ganz herzlich bei **Ralf-Peter Dobroschke, Lars Riesche und Bernd Richter** für die hervorragende Zusammenarbeit im Rahmen des Sektionsdienstes bedanken. Den Sekretärinnen des Hauses, **Frau Kubaile-Jahn und Frau Schilling**, danke ich ebenfalls für die gute und sehr nette Zusammenarbeit.

Bedanken möchte ich mich weiterhin noch bei allen meinen Teamkollegen - insbesondere dem „alten“ Team (**Chris, Anne B., Michaela, Birgit, Matthias, Christin, Sylke, Steffi, Kathrin G.**), aber auch dem „neuen Team“ (**Tobi, Anne R., Kathrin S., Verena, Mirijam, Kristin, Claudia, Simone und Nicole**) - für ihre nette und freundliche Hilfe. Insbesondere **Sarah und Katja** sei gedankt für die Unterstützung bei der Bewältigung spezieller Computerprobleme.

Ein ganz besonderes Dankeschön richte ich an **Herrn Dr. K.-F. Schüppel**, der mir im Rahmen der Diagnostik in der Funktion des Prosektors mit wohlwollender Hilfe und wissenschaftlichem Verstand zur Seite gestanden hat.

Nicht zuletzt möchte ich mich auch ganz herzlich bei meiner **Familie** bedanken, die mich während des Studiums und der Doktorandenzeit tatkräftig unterstützt haben.